

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. N. Henning

Über Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Capillarpermeabilität

Der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

als Habilitationsschrift vorgelegt von
SIEGFRIED WITTE

Sonderdruck aus: „Folia haematologica, Neue Folge“, 1, 3, 1957
Herausgegeben von Prof. H. Schulten und Prof. L. Heilmeyer

Über Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität

Von

SIEGFRIED WITTE

mit 2 Abbildungen



AKADEMISCHE VERLAGSGESELLSCHAFT M. B. H.
FRANKFURT AM MAIN

1957



Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Über Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität

Von SIEGFRIED WITTE

Mit 2 Abbildungen

Das Blutgefäßsystem und die Blutgerinnung sind mit der Funktion des Blutes eng verbunden. Das Blutorgan bedarf der Gefäße zur Erfüllung seiner Transportfunktionen, während der Blutgerinnungsvorgang den Körper bei einer Gefäßverletzung vor dem Verlust dieses lebenswichtigen Organs bewahrt. Schon eine oberflächliche Betrachtung läßt enge Beziehungen zwischen Blutgefäßen und Blutgerinnung erkennen. So darf offenbar die Gerinnung erst eintreten, wenn das Blut die Gefäße verläßt, weil eine intravasale Gerinnung als Thrombose und Embolie eine schwere und oft lebensbedrohliche Funktionsstörung des Blutorgans bedeutet. Die Mechanismen, welche das Flüssigbleiben des Blutes im Gefäßsystem gewährleisten, sind also ebenso wichtig wie die Blutgerinnbarkeit und bilden anscheinend einen Teil der Blutgerinnung, worin die intakte Gefäßwand eine wichtige Rolle spielt. Ferner gibt die Klinik der hämorrhagischen Diathesen zahlreiche Beispiele für die Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Blutgefäßen. Besonders auffallend sind die Verbindungen zwischen den Störungen der Thrombozytenzahl und -funktion und den Erscheinungen einer pathologischen Kapillarresistenz, wie sie beim klassischen Morbus maculosus WERLHOF am bekanntesten sind. Unter Kapillarresistenz (oder Kapillarfragilität) verstehen wir dabei die Widerstandskraft der Kapillarwand, korpuskuläre Blutbestandteile, besonders Erythrocyten, am Verlassen des Gefäßes zu hindern. Von ihr zu unterscheiden ist das Phänomen der Kapillarpermeabilität, mit dem wir die Durchlässigkeit der Kapillarwand für Wasser mit echt und unecht gelösten Substanzen bezeichnen.

Um die möglichen pathophysiologischen Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität näher zu studieren, erscheint es zweckmäßig, zuerst unsere bisherigen Kenntnisse über die beiden Komponenten dieser Frage, die Blutgerinnung und die Gefäßpermeabilität, kurz darzustellen.

Eine Übersicht über die Blutgerinnung

Die wichtigste und am längsten bekannte Blutgerinnungsreaktion ist die Umwandlung von *Fibrinogen in Fibrin*. Sie wird durch das Gerinnungsferment Thrombin bewirkt und verläuft wahrscheinlich in mehreren Schritten. In einem 1. Schritt wird das Fibrinogen durch Thrombin unter proteolytischer Abspaltung von Peptiden aktiviert [1-4]. Danach erfolgt eine spontane Polymerisation zu Fibrin, an der elektrostatische Kräfte und intermolekulare Wasserstoffbindungen beteiligt sind. Über eine postulierte Zwischenstufe mit reversibler Fibrinogen-Thrombinbindung und ihre Identität mit dem Profibrin (APRZ [5, 6]) herrscht noch keine Klarheit. Die Fibrinogen-Fibrinumwandlung, zu der Calciumionen notwendig sind [7], kann durch mehrere fibrinoplastisch wirksame Stoffe beschleunigt werden: durch eine hitzelabile, nicht dialysable Plasmakomponente [8] und durch eine nicht ultrazentrifugierbare Thrombocytenkomponente, den Thrombocytenfaktor 2 [9].

Das aktive Ferment Thrombin, von dem 1 Teil 100000 Teile Fibrinogen zur Gerinnung bringen kann [10], entsteht aus einer inaktiven Vorstufe, dem *Prothrombin*, unter physiologischen Bedingungen wahrscheinlich bei Abspaltung geringer Peptidmengen als Biothrombin [11]. Diese Aktivierung geht mit Hilfe einer Reihe von Katalysatoren vonstatten. Die klassische Gerinnungslehre nennt als Katalysator die Thrombokinas (= Thromboplastin). Sie entsteht im Blut aus mehreren Vorstufen und Komponenten, wobei der genaue Reaktionsmechanismus noch Gegenstand der Forschung ist. Als gesichert kann man 2 Phasen, eine einleitende langsame und eine schnelle Phase der Prothrombinumwandlung, unterscheiden. Es entsteht anfangs nur eine kleine Menge Thrombin, das dann eine autokatalytische Reaktion in Gang setzt, die zu einer lawinenartig anwachsenden Thrombinbildung führt. Diese Reaktion besteht aus einer Aktivierung des Faktors V (Proaccelerin) zu Accelerin durch das initial gebildete Thrombin [12] (Plasma-Ac-Globulin und Serum-Ac-Globulin [13]). Nach OWREN [14] verbindet sich das Accelerin mit anderen Umwandlungsfaktoren zu dem endgültigen Katalysator der Prothrombin-Thrombinreaktion, der Prothrombinase genannt wurde und durch Ultrazentrifugierung dargestellt werden konnte. Calciumionen sind auch für die Thrombinbildung notwendig.

Eine weitere autokatalytisch wirkende Kettenreaktion scheint durch die Einwirkung initialer Thrombinspuren auf die Thrombocyten zustande zu kommen (QUICK [9, 15, 16]) und setzt dadurch die gerinnungsaktiven Plättchenbestandteile frei. Diese Thrombinwirkung geht wahrscheinlich über den Umweg der Aktivierung von Plasmakinasefaktoren vor sich, die sich auf der Oberfläche der Plättchen anreichern können [17, 18].

Die einleitende langsame Phase der Prothrombinaktivierung wird durch *Thromboplastin* ausgelöst, das wahrscheinlich noch der Mithilfe des Faktors VII (Proconvertin) bedarf [19]. Sicher gilt diese Kombination für das fertige Thromboplastin, das durch Gefäßverletzung aus den Geweben ins Blut gelangt. Daneben kann ein Thrombo-

plastin aus mehreren inaktiven Vorstufen im Blut selbst gebildet werden. Das führt uns zur Frage nach den auslösenden Momenten und den ersten Reaktionen des Blutgerinnungsvorganges.

Hier spielt der *Kontakt des Blutes mit fremden Oberflächen*, die sich von der intakten Gefäßwand unterscheiden, eine ausschlaggebende Rolle. Durch diesen Kontakt werden der Faktor IX (Christmasfaktor, antihämophiler Faktor B [20]) und wahrscheinlich Faktor VII [21] aktiviert. Die Thrombocyten sind an dieser Vorphase ebenfalls beteiligt. Sie werden im Sinne der „viskösen Metamorphose“ agglutiniert und aufgelöst [22], geben bei ihrem Zerfall einen lipoiden Faktor, den Plättchenfaktor 3 ab, der sich mit dem antihämophilen Globulin (Faktor VIII), dem Faktor IX und vielleicht noch anderen ähnlichen Faktoren (Plasma Thromboplastin Antecedent, ROSENTHAL [23], Faktor X, KOLLER [24]) unter Calciumanwesenheit zur aktiven Blutthrombokinase verbindet.

Das Primum movens bei der Blutgerinnung ist also, wenn man von dem Sonderfall des Eindringens von Gewebsthrombokinase ins Blut absieht, der Einfluß eines veränderten Oberflächenkontaktes auf einen oder mehrere Plasmabestandteile. Der genaue Wirkungsmechanismus bleibt noch offen. Als bisherige, zum großen Teil durch Befunde gestützte Hypothesen sind zu erwähnen: die Adsorption von Inhibitoren verschiedener Gerinnungsfaktoren oder auch die Adsorption von besonders labilen Aktivatoren an der benetzbaren Wandoberfläche, wobei der Adsorption auch eine Hydrolyse oder Denaturierung folgen könnte [25].

Als Sicherung gegen eine intravasale Gerinnung verfügt das Gerinnungssystem über eine Reihe von *Hemmfaktoren*. Deren wichtigste Gruppe, die der Thrombinwirkung entgegengerichtet ist, wird als Antithrombin bezeichnet. In ihr können wir mehrere Faktoren unterscheiden: Thrombin kann durch das ausfallende Fibrin adsorbiert werden. Es kann ferner von dem sogenannten natürlichen Plasmaantithrombin gebunden und damit inaktiviert werden. Außerdem kann dieses Antithrombin mit Heparin einen Heparin-Cofaktorkomplex bilden, der die Reaktion Thrombin + Fibrinogen stark verzögert [26]. Auch wird während der Prothrombinumwandlung ein Prinzip mit Thrombin-neutralisierender Wirkung frei [27]. Aber auch in früheren Phasen der Blutgerinnung, bevor es zur Thrombinbildung kommt, greifen Inhibitoren ein. So hemmt Heparin mit einem Cofaktor auch die Prothrombinumwandlung und wirkt dem Thrombocytenkinaseanteil entgegen [28]. Die engen topographischen Beziehungen der das Heparin produzierenden Mastzellen zu den Gefäßen lassen die Bedeutung des Heparins für lokale gerinnungsbeeinflussende Reaktionen erkennen. Auch gegen die Plasmathrombokinasefaktoren gerichtete Inhibitoren wurden nachgewiesen, so besonders ein das antihämophile Globulin bindendes lipoides Antithromboplastin [29]. Ebenso findet sich im Plasma ein Inhibitor der Gewebsskinase [30]. Auch in mehr unspezifischer Weise können gerinnungshemmende Effekte auftreten, indem Thrombin oder andere gerinnungsaktive Substanzen an die Oberfläche von Plasmaproteinen adsorbiert werden oder Plasmaeiweißkörper als „Antikörper“ in verschiedene Phasen der Blutgerinnung hemmend eingreifen.

Schließlich bleiben noch die Nachphasen der Gerinnung zu besprechen, die Retraktion und die Fibrinolyse. Die *Retraktion* des Fibringerinnsels ist an die Anwesenheit intakter Blutplättchen gebunden, die im Verlauf der viskösen Metamorphose das die Retraktion bewirkende Material absondern [23, 31, 32]. Es bedarf zur Wirkung der Anwesenheit von Glukose [33] und vielleicht noch eines zusätzlichen Plasmafaktors [34].

Die *Fibrinolyse* besitzt im Blut ein wohlausgewogenes System von Aktivatoren und Hemmern, das mit dem gerinnungsauslösenden System vergleichbar ist. Das aktive Ferment Fibrinolysin ist proteolytisch wirksam gegen das ausgefallene Fibrin, aber auch gegen Fibrinogen, Prothrombin und andere Gerinnungsproteine. Es kreist im Blut als Profibrinolysin, das durch eine Gewebsskinase, Bakterienkinasen (Streptokinase) oder ein System von Plasmaaktivatoren umgewandelt werden kann [35]. Antifibrinolyso-kinasen und Antifibrinolyse können diese Reaktionen hemmen [36]. Ob die fibrinolytischen Vorgänge im Körper außer dem Abbau ausgefallenen Fibrins noch andere Funktionen zu erfüllen haben, ist nicht gesichert.

Grundzüge der Kapillarpermeabilität

Die *Blutkapillare* besteht aus den Endothelzellen, die in einschichtiger Lage flacher länglicher Zellen aneinander liegen. Die Zellgrenzen sind untereinander stark verzahnt. Sie werden von dem interzellulären Zement erfüllt, der wahrscheinlich von den Endothelzellen produziert wird [37]. Außen liegt dem Endothelrohr das Grundhäutchen an, netzartig angeordnete feine Gitterfasern [38], die mit den Kollagenfasern des umgebenden Bindegewebes in Beziehung treten [39]. Neben diesem Fibrillennetz besteht das Grundhäutchen aus einer amorphen Phase, deren hoher Gehalt an Mukopolysacchariden auf ihre enge Verwandtschaft zur Grundsubstanz des Bindegewebes hinweist, deren an der cytoplasmatischen Grenzfläche des Endothelrohres geordnet ausgebildete Grenzmembran sie darstellt [39]. Dem Grundhäutchen ein- oder aufgelagert findet man die Pericyten oder Adventitiazellen, die die Kapillaren vielfältig umklammern und die Verbindung mit dem Fibrocytennetz und dem bindegewebigen Retikulum um die Kapillaren herstellen. Auch steht die ganze Kapillarwand in engen plasmatischen Beziehungen zu den Maschen des peripheren Nervenetzes des sogenannten Terminalretikulum [38]. Schließlich wird noch eine endokapilläre Schicht beschrieben [37], die dem Endothel an der inneren Oberfläche aufliegt und von adsorbierten Plasmaproteinen gebildet werden soll [40]. Ihre Beziehung zur sogenannten hyaloplasmatischen Deckplatte der Endothelien [41] ist bisher nicht geklärt.

Obwohl die Kapillarpermeabilität eine der fundamentalen Körperfunktionen darstellt, herrscht über ihr Wesen und Funktionieren noch keineswegs Klarheit. Das hat zum großen Teil methodische Gründe. Unsere jetzigen Vorstellungen über die Durchlässigkeit der Kapillaren beruhen vorwiegend auf der *Porentheorie* [37, 42]. Rundliche oder ovale Poren sind auch bereits elektronenoptisch an den Glomeruluskapillaren der Niere nachgewiesen worden [43, 44]. Die Poren haben nach PAPPENHEIMER [42] an den Muskelkapillaren einen ziemlich gleichmäßigen Radius von 30–32 Å und bedecken weniger als 0,2% der gesamten Kapillaroberfläche. Die Poreneigenschaft kommt nicht den Endothelzellen sondern dem interzellulären Zement zu [37]. Die Größe der Poren würde dann die Durchlässigkeit der Kapillarmembran begrenzen. Für Wasser und kleine Elektrolyte wird ein Diffusionsmechanismus angenommen mit einer schnellen Durchmischung zwischen intra- und extravasalem extrazellulärem Raum [45–48]. Mit steigendem Molekulargewicht findet eine zunehmende Behinderung der Passage wasserlöslicher Teilchen durch die flüssigkeitsgefüllten Poren statt [49], so daß Moleküle mit einer Größe bzw. mit einem Kugelradius, der dem Porenradius nahe kommt oder ihn übersteigt, mehr oder weniger völlig zurückgehalten werden (Mole-

kularsierung). Fettlösliche Stoffe sollen demgegenüber durch die lipoidhaltige Membran der Endothelzellen selbst diffundieren [50]. Nach der Porentheorie werden unter normalen Bedingungen die Plasmaeiweißkörper von der Kapillarmembran zurückgehalten. Eine Reihe experimenteller Befunde spricht aber dafür, daß auch die Plasmaproteine oder vergleichbare Moleküle in einem gewissen Ausmaß die Kapillarmembran passieren und im extravasalen Raum und in der Lymphe gefunden werden können. Dies wird zum Teil durch die Annahme spärlicher größerer Kapillarlücken erklärt [51].

Gerade das für den Stoffwechsel so wichtige *Problem des Eiweißaustausches zwischen Blut und Interstitium* enthält noch manche offene Frage. EPPINGER hielt die interstitielle Flüssigkeit für eiweißfrei und baute auf dieser Vorstellung seine Lehre von der Permeabilitätspathologie und der Albuminurie ins Gewebe als erstem Ausdruck vieler Krankheiten auf [52] in Erweiterung der RÖSSLERschen „serösen Entzündung“ [53]. Nach den heutigen Kenntnissen ist die extrazelluläre Flüssigkeit nicht als eiweißfrei zu betrachten. Mehr indirekte Beweise lieferten Beobachtungen mit radioaktiv markierten Eiweißkörpern, bei denen immer ein steiler Abfall der Radioaktivität des Plasmas in den ersten 1–2 Tagen nach intravenöser Injektion markierter Eiweißfraktionen gemessen wurde, der auf einen extravaskulären Verteilungsraum für die verschiedenen Serumeiweißkörper bezogen wird [54–59]. Auch Fibrinogen verschwindet bei Patienten mit kongenitaler Afibrinogenämie nach intravenöser Infusion in 48 Stunden zur Hälfte in den extravasalen Raum [60]. Der tägliche Umsatz der Plasmaeiweißkörper wird mit 15–25% angegeben [61–64]. Direkte Messungen des Eiweißgehaltes der Gewebsflüssigkeit oder der Lymphe, was wahrscheinlich nicht dasselbe ist, sind schwierig, da meist nicht zu beweisen ist, daß die erhaltene Flüssigkeit tatsächlich die normale extrazelluläre Flüssigkeit bei ungestörten Permeabilitätsverhältnissen repräsentiert. Allgemein wird angenommen, daß der Eiweißgehalt in der extravasalen Flüssigkeit niedriger ist als im Plasma. Man schätzt die Proteinkonzentration der interstitiellen Flüssigkeit auf mindestens 0,5–1 g %, während einige Autoren auch 4–5 g % annehmen [58, 65, 66]. Sie ist nicht in allen Organen gleich hoch [54]. Die älteren Angaben, nach denen der Eiweißgehalt der extravasalen Flüssigkeit unter 0,1 % beträgt, sind sicher nicht mehr haltbar [67]. Die qualitative Zusammensetzung wird von einigen Autoren mit dem Plasma gleichgesetzt [66], während andere ein relatives Überwiegen der Albumine fanden [58, 67–71]. Da die interstitielle Flüssigkeit sich zur Plasmamenge wie 3 : 1 verhält, befindet sich im extrazellulären Raum mindestens halb soviel (oder etwa gleich viel) Protein wie im Plasma.

Der allgemeine *Vorgang der Kapillarpermeabilität* wird nach den Vorstellungen von STARLING und SCHADE im wesentlichen vom hydrostatischen und kolloidosmotischen (onkotischen) Druck bestimmt, wobei sowohl die Verhältnisse im Blut als auch im Gewebe berücksichtigt werden müssen. Entsprechend den Kapillardruckmessungen von LANDIS nimmt man ein Überwiegen des Flüssigkeitsaustrittes am arteriellen Schenkel der Kapillare und ein Überwiegen des Flüssigkeitseinstromes am venösen Schenkel an. Diese Vorstellungen wurden durch die Beobachtungen an der kapillaren Strombahn von CHAMBERS und ZWEIFACH [37] erweitert. Diese Beobachtungen beziehen sich auf die Topographie und die sogenannte *Vasomotion der terminalen Strombahn*. Danach kann man in den meisten Kapillargebieten Gefäße mit bevorzugter Strömung, die a-v- (oder Durchgangs-) Kanäle unterscheiden, deren proximale Teile, die Metarteriolen mit den Abgängen der echten Kapillaren (Präkapillaren) glatte Muskelzellen besitzen, die eine spontane Kaliberänderung mit Perioden von $\frac{1}{2}$ bis

3 Minuten ausführen (die Vasomotion). Das Netz der echten Kapillaren liegt im Nebenschluß zum a-v-Kanal, wird entsprechend der Vasomotion in wechselndem Ausmaß durchströmt und vereinigt sich in relativ weiten Postkapillaren mit dem distalen Teil der durchgehenden Kanäle. Da in den durchgehenden Kanälen die Strömungsgewöhnlich wesentlich schneller ist und der hydrostatische Druck in ihnen auf einem relativ kurzen Weg wirksam ist, werden diese Kanäle als bevorzugter Ort der nach außen gerichteten Filtration angesprochen. In den langsam durchströmten echten Kapillaren soll der kolloidosmotische Druck bevorzugt wirksam sein, so daß hier der Ort der Rückresorption angenommen wird. Die Vasomotion beeinflusst nun die Filtrationsvorgänge in der Art, daß eine Verminderung den hydrostatischen Druck auf das ganze Kapillargebiet überträgt und zu vermehrtem Flüssigkeitsausstrom führt. Er wird noch verstärkt durch einen verminderten Abfluß der in den Kapillaren strömenden vergrößerten Blutmenge aus den Venolen. Verstärkte Vasomotion beschränkt den Durchfluß durch die echten Kapillaren, vermindert in ihnen deshalb den hydrostatischen Druck, so daß sich der kolloidosmotische Druck stärker bemerkbar machen kann und die Rückresorption überwiegt. Die Vasomotion wird durch humorale und nervöse Faktoren gesteuert, wobei sie beschleunigt wird durch akute Blutungen, Sympathikusstimulation, Adrenalin oder Nebennierenrindenextrakt [73, 74]. Dementsprechend fand man eine Verminderung der Kapillarpermeabilität [75–80]. Temperaturerhöhung, direktes Trauma, vermehrte Organtätigkeit, Anoxie vermindern die Vasomotion [37] und bewirken einen gesteigerten Flüssigkeitseinstrom ins Gewebe [81, 82].

Das Gewebe spielt sicher nicht nur eine passive Rolle im Flüssigkeits- und Stoffaustausch durch die Kapillarwand, ist es doch überall als *interstitielles Bindegewebe* in mehr oder weniger ausgeprägter Ausdehnung zwischen Kapillare und Parenchym eingeschaltet. Auch entwicklungsgeschichtlich gehören Kapillare und umgebendes Bindegewebe zusammen. Die mechanischen Beziehungen zwischen Kapillarpermeabilität und Interstitium sind durch den Einfluß des Gewebssinnendrucks auf den hydrostatischen Druck in den Kapillaren gegeben. Ein gesteigerter Flüssigkeitsaustritt geht mit einer Verminderung des Gewebssinnendrucks einher [80]. Über den kolloidosmotischen Druck der Gewebsflüssigkeit als Gegenspieler zum onkotischen Druck des Plasmas ist wenig bekannt. Im großen Netz fand man einen osmotischen Druck, der nur wenig gegenüber dem Blut verändert war [83].

Da die *Bindegewebsgrundsubstanz* mit ihrem im wesentlichen aus Hyaluronat bestehenden Anteil am Aufbau der Kapillarwand durch das Grundhäutchen beteiligt ist, werden die unter dem Begriff des „spreading factor“ zusammengefaßten Enzyme, die die chemische und physikalische Beschaffenheit der Kohlenhydratgruppen der Grundsubstanz beeinflussen [84], auch den Wasser- und Stofftransport an der Grenze Kapillare – Bindegewebe mitbestimmen können.

Auch über die Art des *Transportes durch das Gewebe*, den „inneren Kreislauf“ EPPINGERS, bestehen keine gesicherten Vorstellungen. So sprechen manche Autoren der Grundsubstanz die Hauptfunktion beim Stofftransport zu [80, 85, 86], während andere die Bindegewebsfasern gleichsam als Leitschienen des Flüssigkeitstransportes ansehen [52]. Sicher steuert der Bedarf der Parenchymzellen die Gefäßpermeabilität [87], so wie eine gesteigerte Organaktivität auch die Kapillardurchblutung beeinflusst.

Zum inneren Kreislauf gehört endlich noch das *Lymphgefäßsystem*, das deshalb indirekt auch an den Vorgängen und Folgen der Kapillarpermeabilität beteiligt ist. So haben die Lymphgefäße anscheinend einen besonderen Anteil an dem Abtransport

von vermehrt ins Interstitium gelangten Eiweißkörpern [88]. Da die Lymphgefäße ein System geschlossener Kapillaren und Röhrchen darstellen, erhebt sich hier von neuem der Fragenkomplex der Gefäßpermeabilität, der ebenso wie der mit Permeabilitätsproblemen eng verknüpfte Transport im Interstitium einer speziell darauf gerichteten Untersuchung bedürfte und deshalb hier nur erwähnt werden kann.

Es erscheint nun notwendig, noch den Ort des Flüssigkeitsdurchtritts in der Kapillarwand, den *interzellulären Zement* mit seinen Poren etwas genauer zu betrachten. Die Endothelzellen, die den Zement bilden, gewinnen hierdurch auch einen bestimmenden Einfluß auf die Beschaffenheit der Kapillarpermeabilität. Der Zement enthält wahrscheinlich vorwiegend Chondroitinsulfat [89]. Sein physikalischer Zustand ändert sich entsprechend dem pH und dem Calciumgehalt der umgebenden Flüssigkeit. Der Zement wird kontinuierlich erneuert, da er, zumindest unter pathologischen Bedingungen, dauernd in den Blutstrom „abtropfen“ kann [37]. Der Zement und die in ihm befindlichen Poren stehen in enger Beziehung zu den Bluteiweißkörpern, die, als endokapilläre Schicht an der Kapillarwand adsorbiert, wahrscheinlich die Porendurchmesser mitbestimmen und deshalb eine wesentliche Rolle in der Kapillarpermeabilität spielen [90]. Eng mit diesem Fragenkomplex verknüpft sind die Erscheinungen der elektrischen Ladung der Kapillarmembran, des Bestehens von Grenzflächen- und Porenmembranpotentialen [91, 92]. Wie aus dem Vorstehenden ersichtlich, darf man sich die Kapillarporen nicht als etwas Starres, Statisches vorstellen, sondern muß einen dauernd fließenden, veränderlichen Zustand der Kapillarmembran annehmen, der sich unter ungünstigten Bedingungen in einem dynamischen Gleichgewicht befindet. Daß die Poreneigenschaft offenbar auch von der Richtung des Blutstromes beeinflußt wird und sich bei Strömungsumkehr ändern kann [37], unterstreicht die vielfältigen Verflechtungen und wechselseitigen Bedingtheiten der Kapillarpermeabilitäts-Erscheinungen.

Schließlich wird von vielen Untersuchern betont, daß sich die Vorgänge bei der Kapillarpermeabilität nicht restlos durch mechanische, physikalisch-chemische und chemische Tatsachen erklären lassen, so daß einer lebenden Membran wie der Kapillarwand auch vitale Kräfte bei der Aufrechterhaltung ihrer Funktion zugestanden werden müssen [52, 91–93].

Eigene Untersuchungsbefunde

Es wurde im vorstehenden aufgezeigt, daß trotz der zahlreichen Beobachtungen eine Erklärung des Vorganges der Kapillarpermeabilität im einzelnen noch nicht möglich ist. Im Vordergrund des derzeitigen klinischen Interesses stehen die Beziehungen der Plasmaproteine zur normalen und gestörten Kapillarpermeabilität, nachdem die früheren Anschauungen über die Undurchlässigkeit der Kapillarwand für Eiweiß, wie sie vor allem EPPINGER formuliert hat, offenbar nicht mehr haltbar sind. Die Tatsache eines extravasalen Depots von Plasma-eiweißkörpern, das in lebhaftem Austausch mit den intravasalen Blutproteinen steht, wirft zahlreiche klinisch wichtige Fragen auf. Unter den Plasmaproteinen bilden die an der Blutgerinnung beteiligten Faktoren in mehrfacher Hinsicht eine Sondergruppe. So lassen sie sich

durch ihre gerinnungsphysiologischen Eigenschaften noch in kleinen Mengen nachweisen. Ferner stellen sie im Gegensatz zu der meist Transport- und Stoffwechselfunktionen ausübenden Masse der Bluteiweißkörper eine Gruppe mehr oder weniger gut umschriebener Proteine dar, deren Aufgabe im Körper auf das Blut beschränkt zu sein scheint, da sie die Unversehrtheit des Blutbestandes im Kreislauf garantieren und den Körper vor Blutverlusten nach außen und innen schützen sollen. Der Gerinnungsvorgang wird nach unseren jetzigen Kenntnissen in seinen ersten Schritten immer dann ausgelöst, wenn die normale Oberflächenbeschaffenheit der Gefäßwand gestört wird, sei es durch eine Kontinuitätstrennung oder durch anderweitige Änderung der Wand, die als Benetzbarkeit, Änderung der elektrischen Potentialdifferenz u. a. bisher nur unvollständig bekannt ist. Da anscheinend in der Aufrechterhaltung einer normalen Kapillarpermeabilität Oberflächenwirkungen von Plasmaproteinen eine Rolle spielen, ergab sich die Frage nach einer Beziehung zwischen Blutgerinnungsvorgängen und endokapillärem Permeabilitätsfaktor. Dieser Frage wurde in ausgedehnten Untersuchungen nachgegangen.

Zum Studium der Kapillarpermeabilität wurde eine *Methode* entwickelt, mit der man die in einer kontinuierlich durchspülten Zellophan-kammer vorgelagerten Mesenterialgefäße der weißen Ratte mikroskopisch im durchfallenden Licht beobachten kann [94]. Das Auffinden eines geeigneten Fluoreszenzfarbstoffes, des gelblichen Brillantsulfoflavins, der nicht toxisch ist und bis zu einer Konzentration von 0,03% an die Plasmaeiweißkörper fest gebunden wird, machte die Untersuchung der Kapillarpermeabilität im Fluoreszenzmikroskop bei Blauviolettbeleuchtung möglich. Die Methodik und die Versuchsergebnisse sind im einzelnen an anderer Stelle publiziert [94].

Bei gesunden Tieren beobachtete man, daß der fluoreszierende Farbstoff nach intravenöser Injektion die Gefäßbahn nicht sichtbar verließ. Nach 5 bis 15 Minuten erst begann die Fluoreszenz in den Lymphwegen zu erscheinen, während zu gleicher Zeit eine feine, von den Blutgefäßen ausgehende Anfärbung netzartig angeordneter Bindegewebsfasern auftrat. Dieses Verhalten wurde als Ausdruck der normalen Gefäßpermeabilität gewertet. Eine gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit ging mit einem schnelleren und verstärkten Fluoreszenzaustritt aus den Gefäßen einher (Abb. 1 und 2).

Um die Beziehungen der Kapillarpermeabilität zur Blutgerinnung zu untersuchen, wurden in mehreren Gruppen verschiedene, definierte

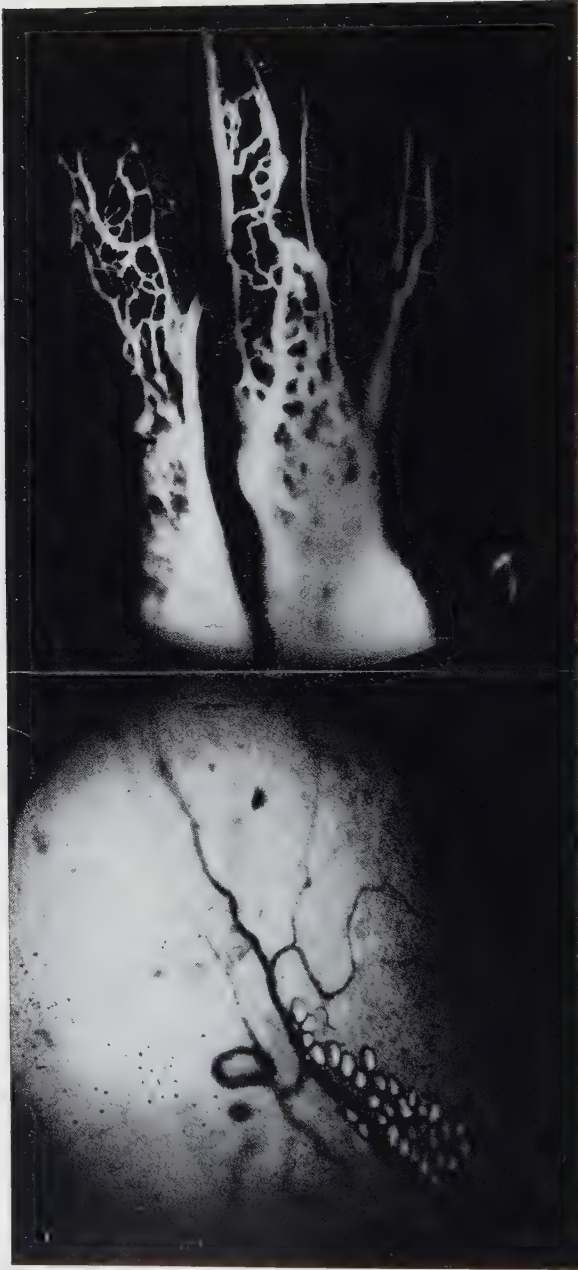


Abb. 1

b

Abb. 1a. Ein aus dem Mesenterialfett austretendes Arterienpaar, einen kleinen Lymphgang zwischen sich fassend, mit Abzweigung von Metarteriole und Kapillaren. Hellfeld, 40mal.

Abb. 1b. Aus dem Mesenterialfett austretende Arterien und kapilläres Netzwerk am Fettrand. Normale Permeabilität, Fluoreszenzbeobachtung nach intravenöser Injektion des Fluorochroms, 40mal.



Abb. 2

Abb. 2. Erythrocytenverklumpung, Strömungsverlangsamung mit besonders intensiver Fluoreszenz des intravasalen Plasmas, diffuse und unschriebene wolkige Farbstoffaustritte mit Bindegewebsanfarbung bei stark gesteigerter Gefäßpermeabilität. Fluoreszenzbeobachtung, a) 40 mal, b) 80 mal.

und durch Bestimmung der Thrombocyten und der verschiedenen Blutgerinnungsfaktoren objektivierte Störungen des Blutgerinnungssystems hervorgerufen die durch Injektion des Fluorochroms hinsichtlich ihrer Kapillarpermeabilität geprüft wurden.

Bei der durch ein *Antithrombocytenserum* verursachten akuten thrombocytopenischen Purpura fand sich eine schnell auftretende Permeabilitätssteigerung, die sich in den folgenden Tagen zurückbildete. Gesteigerte Kapillarpermeabilität und -fragilität gingen dabei nicht immer parallel. Auch nach einem erstmalig bei der Ratte angewendeten, durch Sensibilisierung gegen Aortenwand gewonnenen *Antigefäßserum* entstand bei nur vorübergehender Thrombocytopenie eine Permeabilitätssteigerung, so daß eine immunologische Verwandtschaft zwischen Thrombocyten und Gefäßendothel vermutet wurde. Pathogenetisch vielfältige Störungen der humoralen Gerinnungsfaktorenentstanden nach *intravenöser Zufuhr von Trypsin, Thrombin und Thrombolyt*, einem Salz der seltenen Erde Neodym. Einheitlich war in allen Fällen eine zum Teil bis unter 10% der Norm gehende Abnahme von Prothrombin, Faktor V und Faktor VII. Mit der Ausbildung der Gerinnungsverzögerung ging regelmäßig eine Steigerung der Gefäßpermeabilität einher, die der Schwere der Koagulopathie entsprach. Eine vorübergehende Thrombocytopenie hatte bei diesen Zuständen keinen sicheren Einfluß auf die Kapillardurchlässigkeit. Auch nach einer durch *Heparinzufuhr* induzierten Gerinnungshemmung ließ sich eine Permeabilitätssteigerung beobachten.

Wie kann die Blutgerinnung die Gefäßpermeabilität beeinflussen?

Eine Diskussion des möglichen Mechanismus der Permeabilitätsbeeinflussung durch die Blutgerinnung wird die Grenzfläche zwischen Blut und Kapillarwand berücksichtigen müssen. Nach neuerer Ansicht wird diese Grenzfläche von einer Schicht adsorbierter Plasmaproteine gebildet, die unter anderem auch die Beschaffenheit des interendothelialen Zementes mitbestimmt. Genauere Befunde über die vermuteten stofflichen Zusammenhänge des vor allem auch bei hämorrhagischen Diathesen wichtigen sogenannten Gefäßfaktors mit dem Plasma und seinen Gerinnungskomponenten liegen bishernicht vor [95]. Entsprechend einer Hypothese von Copley [96] besteht die endokapilläre Grenzschicht aus nicht geronnenem Fibrin, das kontinuierlich produziert und auf dem Endothel niedergeschlagen wird. Diese Vorstellung stützt sich auf den Nachweis einer polymerisierten, noch nicht

geronnenen viskösen Zwischenstufe bei der Fibrinogen-Fibrinumwandlung, auf die Anwesenheit inaktiven Thrombins im Plasma, auf die kapillorrhagischen Wirkungen von intravenös injiziertem Fibrinolytin und auf den gleichsinnigen Effekt von Calciumionen auf die Fibrinbildung und die Kapillarwandbeschaffenheit. Diese Hypothese bedarf noch der Stützung vor allem durch physiko-chemische Untersuchungen über die Bildung mono- oder oligomolekularer Schichten an Plasmagrenzflächen, über das Wesen der Viskosität [97, 98] und die Strömungseigenschaften des Blutes. So ist bekannt, daß sich Fibrinogen bei Anwesenheit von Prothrombin in monomolekularer Schicht ausbreiten kann [99]. Von morphologischer Seite wurden Befunde über Fibrin- und Thrombocytenniederschläge an den Kittsubstanz-Grenzlinien auf der Endotheloberfläche bei Thromboseneigung [100] mitgeteilt, die zumindest für pathologische Zustände Beziehungen zwischen interzellulärem Zement und Blutgerinnung beweisen [101].

Die Ansichten von einer kontinuierlich intravasal ablaufenden Modifikation des Blutgerinnungsvorganges, die nicht bis zum Endpunkt eines soliden Gerinnsels führt, aber mit einem dauernden Verbrauch verschiedener Gerinnungsfaktoren einhergeht, erfahren eine wichtige Stütze durch die Beobachtung hoher Umsatzgeschwindigkeiten der Gerinnungsfaktoren. Diese Untersuchungen wurden vorzugsweise an Patienten mit kongenitalen Gerinnungsdefekten vorgenommen. So beträgt die Halbwertszeit von Fibrinogen im Kreislauf nur 24 Stunden [60]. Nach experimenteller intravasaler Defibrinierung scheint Fibrinogen schon nach 2 bis 3 Stunden wieder vollständig ersetzt zu werden [102]. In dem gleichen Sinne sprechen auch unsere Beobachtungen nach Thrombininfusion. BRINKHOUTS [103] wies für das antihämophile Globulin eine Halbwertszeit von 6 bis 12 Stunden nach. Bei der OWRENSchen Krankheit, dem Fehlen des Faktors V, ist der intravenös injizierte Faktor nach 48 bis 72 Stunden aus dem Kreislauf verschwunden [104–106]. Bei kongenitalem Faktor VII-Mangel verschwindet der exogen zugeführte Faktor in weniger als 24 Stunden [107, 108], und das Prothrombin wird im Kreislauf täglich vollständig umgesetzt [109 bis 111], wie auch aus den klinischen Beobachtungen bei Dicumaroltherapie hervorgeht. Alle diese Umsatzgeschwindigkeiten sind wesentlich höher, als sie für die Masse der Bluteiweißkörper bekannt sind und sprechen für einen dauernden Verbrauch der Gerinnungsfaktoren im Blut.

Eine physiologisch ablaufende „latente Gerinnung“ im Kreislauf wird auch auf Grund von Untersuchungen über den Bildungsmechanis-

mus von Prothrombin und Faktor VII in Lebermitochondrien postuliert [112, 113]. Danach bestehen enge genetische Beziehungen zwischen diesen beiden Faktoren: Prothrombin wird in der Leber aus Faktor VII gebildet und zerfällt im Kreislauf dauernd in Thrombin und Faktor VII, wonach Faktor VII dann in der Leber wieder in Prothrombin zurückverwandelt wird. Der Nachweis von Faktor VII-Aktivität in alternden reinen Prothrombin-Präparaten [114, 115] läßt ebenfalls an einen Zerfall von Prothrombin in Faktor VII (und andere Komponenten) denken. Das bei der angenommenen latenten Gerinnung im Kreislauf in kleinen Mengen freiwerdende Thrombin kann nur für kurze Zeit auf Fibrinogen (und die Thrombocyten) einwirken, da es von den antithrombischen Aktivitäten des Plasmas schnell inaktiviert wird, so daß es nicht zu einer kompletten Gerinnung kommt. Die geringe Menge des von Thrombin angegriffenen Fibrinogens könnte sich dann als dünner Film auf die Gefäßinnenwände niederschlagen, vielleicht nicht in Form des vollständig polymerisierten Fibrins, sondern als proteolytisch verändertes Intermediärprodukt. Die Anhäufung von Fibrin am Endothelrohr würde durch die fibrinolytische Fähigkeit des Blutes verhindert werden [116]. Im Normalzustand befindet sich das Gerinnungssystem danach in einem dynamischen Gleichgewicht [117], in einem „steady state“ [118].

Vergleichsbeobachtungen der Blutgerinnung im arteriellen und venösen Blut, die eine Verlängerung der Prothrombinzeit im Blut nach Passage von Kapillargebieten im großen, kleinen und portalen Kreislauf ergaben [119, 120], sprechen ebenfalls für einen Verbrauch von Gerinnungsfaktoren in den Kapillaren. Bei Kranken mit kombinierter Störung von Blutgerinnung und Endothelfunktion soll dieser Prothrombinverbrauch in der Peripherie fehlen [120].

Wir kommen nun zur Rolle der Thrombocyten in unserer Fragestellung. Wir haben gesehen, daß in der 1. Vorphase der Gerinnung die Thrombocyten durch einen oder mehrere aktivierte Plasmafaktoren so verändert werden, daß sie ihre gerinnungsaktiven Substanzen abgeben. Man kann daraus folgern, daß an der angenommenen, physiologisch ablaufenden latenten Gerinnung auch die Blutplättchen teilnehmen. Die Befunde einer kurzen Lebensdauer normaler Thrombocyten im Kreislauf lassen sich als Hinweis auf einen lebhaften Verbrauch der Plättchen auch bei Gesunden anführen. Mit radioaktiv markierten Thrombocyten und in Transfusionsversuchen fand man eine Lebensdauer von 4 bis 5 Tagen [121–123] bis zu 8 bis 9 Tagen [124,

125]. Neben gerinnungsaktiven Substanzen geben die Thrombocyten bei ihrem Zerfall sehr leicht einen gefäßaktiven Stoff ab, der wahrscheinlich ein Hauptbestandteil des seit langem gesuchten Gefäßfaktors darstellt. Es handelt sich um das Serotonin [126, 127]. Serotonin führt zu einer Kontraktion der kleinen Gefäße, zu einer Verkürzung der Blutungszeit, ferner zu Kontraktionen von Darm und Uterus [128]. Es wurde bei der Gerinnung von thrombocytopenischem Blut vermindert und bei Hämophilie verzögert frei gesetzt gefunden [129]. Über Wirkungen von Serotonin auf die Kapillarpermeabilität ist bisher nichts bekannt geworden, doch läßt sich aus seinem vasokonstriktorischen Effekt auf einen permeabilitätssenkenden Einfluß schließen.

Eine weitere für unsere Fragestellung interessante Substanz aus Thrombocyten ist ein auf Thrombin- oder Calciumzusatz gerinnender, nicht mit Fibrinogen identischer Faktor [130], der von LÜSCHER [131] Protein S genannt wird. Mit ihm gelang es, in Perfusionsversuchen das Dextranödem bei Ratten zu unterdrücken. Ein Zusammenhang dieses Faktors mit dem endokapillären Plasmafilm und dem interzellulären Zement wird vermutet [22].

Schließlich ergeben sich noch immunologische Hinweise für enge Beziehungen zwischen Thrombocyten und Gefäßwand, nachdem ACKROYD [132] gefunden hat, daß Sedormid mit Kapillarendothelien das gleiche zur Purpuraentstehung führende Antigen bilden kann wie mit Thrombocyten.

Wir sehen also, daß unsere Vorstellungen über die Beziehungen der Thrombocyten zu den Gefäßen heute etwas klarer und begründeter geworden sind. Die eigenen Beobachtungen können hierzu einige Gesichtspunkte beisteuern. So wird verständlich, warum eine akute Thrombocytopenie, wie nach Injektion von Thrombin beobachtet, die Gefäßpermeabilität unbeeinflußt läßt, weil in dieser Phase der peripheren Thrombocytenagglutination die gefäßaktiven Substanzen vermehrt freigesetzt werden. Erst wenn das I. Stadium des Plättchenzerfalls überschritten ist, macht sich die Thrombocytopenie im Kreislauf wegen des Mangels an plättcheneigenen, gefäßwirksamen Faktoren in einer gesteigerten Kapillardurchlässigkeit bemerkbar, zumal wenn gleichzeitig die humoralen Gerinnungsverhältnisse, die sich an dem physiologischen Plättchenzerfall beteiligen, gestört sind. In unseren Versuchen mit den Antisera, bei denen es schon frühzeitig nach der Antikörperinjektion zur Permeabilitätssteigerung kam, ist neben der Plättchenverminderung eine direkte Einwirkung auf die Gefäßendo-

thelien, die in der immunoologischen Verwandtschaft beider begründet ist, pathogenetisch wirksam. Ein lokaler Kontakt der Thrombocyten mit der Gefäßwand, wie er für die Probleme der Blutstillung und der Thrombose so wichtig ist, spielt nach unseren Beobachtungen für die Beteiligung der Blutplättchen an der Aufrechterhaltung der Gefäßpermeabilität keine Rolle.

Zusammenfassung

Nach einem Überblick über neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Blutgerinnung und der Permeabilitätsforschung werden die Ergebnisse eigener experimenteller Untersuchungen mitgeteilt, bei denen mit Hilfe einer neuen fluoreszenzmikroskopischen Methode die Gefäßpermeabilität bei verschiedenen experimentellen Blutgerinnungsstörungen studiert wurde. Auf Grund dieser Befunde läßt sich ein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Blutgerinnungsvorgängen und den Erscheinungen der Kapillarpermeabilität annehmen. Die normalen, ungestörten Blutgerinnungsverhältnisse halten die physiologische Gefäßpermeabilität aufrecht. Eine Störung der Blutgerinnung im Sinne einer verminderten Gerinnbarkeit steigert die Gefäßdurchlässigkeit. Die durch neuere gerinnungsphysiologische Befunde begründete Annahme einer kontinuierlich intravasal ablaufenden Modifikation des Blutgerinnungsvorganges, der zu der endokapillären plasmatischen Grenzschicht der Gefäße in Beziehung steht, bildet die vorläufige theoretische Erklärung der gefundenen Zusammenhänge zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität.

Summary

Following a survey of more recent findings with regard to blood coagulation and vascular permeability, results are discussed of the author's own investigations in which the vascular permeability in various experimental disturbances of coagulation was studied by means of a new method of fluorescence microscopy. The findings thus obtained support the assumption of a causal connection between blood coagulation and capillary. Normal, undisturbed processes of blood coagulation maintain the physiological vascular permeability. Disorders in blood coagulation manifesting themselves as decreased coagulability increase capillary permeability. Recent findings relating to the physiology of blood coagulation support the assumption that there is a continuous modification of the intravascular blood coagulation process in relation to the endocapillary plasmatic boundary layer of the vessels. At present this assumption represents the theoretical explanation for the connections found between blood coagulation and capillary permeability.

Résumé

Après un aperçu des recherches actuelles dans le domaine de la coagulation sanguine et de la perméabilité vasculaire, l'auteur communique le résultat d'expériences personnelles dans lesquelles il a étudié, à l'aide d'une nouvelle méthode microscopique à fluorescence, la perméabilité vasculaire dans différents troubles expérimentaux de la coagulation. On peut en conclure qu'il existe une relation causale entre la coagulation

sanguine et la perméabilité capillaire. La coagulation sanguine normale va de faire avec une perméabilité vasculaire physiologique. Une diminution de la coagulabilité est accompagnée d'une augmentation de la perméabilité vasculaire. L'explication théorique de la relation entre coagulation sanguine et perméabilité capillaire se base sur les découvertes récentes de la physiologie de la coagulation prouvant qu'à l'intérieur des vaisseaux il existe des modifications continuelles de la coagulabilité sanguine, qui sont en rapport avec la couche plasmatique limitante des capillaires.

Literatur

1. LORAND, L., and W. R. MIDDLEBROCK, *Biochem. J.* **52** (1952) 196
2. LORAND, L., *Biochem. J.* **52** (1952) 200
3. BAILEY, K., and R. F. BETTELHEIM, *Brit. Med. Bull.* **11** (1955) 50
4. SHERRY, S., W. TROLL and H. GLUECK, *Physiol. Rev.* **34** (1954) 736
5. APITZ, K., *Z. exper. Med.* **102** (1937) 202
6. STEFANINI, M., *Amer. J. Med.* **14** (1954) 64
7. CRADDOCK, C. G., W. S. ADAMS and W. G. FIGUEROA, *J. Laborat. Clin. Med.* **42** (1953) 847
8. RATNOFF, O. D., *J. Clin. Invest.* **33** (1954) 1175
9. WARE, A. G., J. L. FAHEY and W. H. SEEGER, *Amer. J. Physiol.* **154** (1948) 140
10. FERRY, J. D., and P. R. MORRISON, *J. Amer. Chem. Soc.* **69** (1947) 388
11. SEEGER, W. H., *Internat. Tgg. Thrombose und Embolie. Basel* 1954
12. OWREN, P. A., *Internat. Tgg. Thrombose und Embolie, Basel* 1954
13. WARE, A. G., and W. H. SEEGER, *Amer. J. Physiol.* **152** (1948) 567
14. FLYNN, J. E., and R. W. COON, *Fed. Proc.* **12** (1953) 387
15. QUICK, A. J., *Internat. Hämatol. Kongr. Paris* 1954
16. QUICK, A. J., *J. Clin. Invest.* **31** (1952) 625
17. DESFORGES, F., and F. S. BIGELOW, *Blood* **9** (1954) 153
18. DEROBERTIS, E., P. PASEYRO and M. REISIG, *Blood* **8** (1953) 587
19. LÜSCHER, E. F., *Schweiz. med. Wschr.* **1955**, 912
20. BIGGS, R., A. S. DOUGLAS and R. G. MACFARLANE, *J. Physiol.* **122** (1953) 538
21. RAPAPORT, S. J., K. AAS and P. A. OWREN, *Scand. J. Laborat. Clin. Invest.* **6** (1954) 82
22. LÜSCHER, E. F., *Schweiz. med. Wschr.* **1956**, 345
23. ROSENTHAL, R. L., C. H. DRESKIN and N. ROSENTHAL, *J. Clin. Invest.* **32** (1953) 599
24. FLÜCKIGER, P., F. DUCKERT und F. KOLLER, *Schweiz. med. Wschr.* **1954**, 1127
25. FEISSLY, R., *Rev. méd. Suisse rom.* **75** (1955) 370
26. MONKHOUSE, F. C., E. S. FRANCE and W. H. SEEGER, *Circ. res.* **3** (1955) 397
27. SEEGER, W. H., J. F. JOHNSON and C. FELL, *Amer. J. Physiol.* **176** (1954) 97
28. DEUTSCH, E., S. A. JOHNSON and W. H. SEEGER, *Circ. res.* **3** (1955) 110
29. TOCANTINS, L. M., R. T. CARROLL and R. H. HOLBURN, *Blood* **6** (1951) 720
30. LANCHANTIN, G. F., and A. G. WARE, *J. Clin. Invest.* **32** (1953) 381
31. FONIO, A., *Erg. inn. Med. N. F.* **4** (1953) 1
32. LÜSCHER, E. F., *Vox sang.* **1** (1956) 133
33. LÜSCHER, E. F., *Experientia* **12** (1956) 294
34. HARTERT, H., *Klin. Wschr.* **1954**, 139

35. ASTRUP, T., und H. MÜLLERTZ, Europ. Hämatol. Kongr. Amsterdam 1953
36. ASTRUP, T., *Acta haemat.* **7** (1952) 271
37. CHAMBERS, R., and B. W. ZWEIFACH, *Physiol. Rev.* **27** (1947) 436
38. STÖHR, PH., JR., *Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie.* Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951
39. BARGMANN, W., in H. BARTELHEIMER und H. KÜCHMEISTER, *Kapillaren und Interstitium.* Georg Thieme, Stuttgart 1955
40. DANIELLI, J. F., *J. Physiol.* **98** (1940) 109
41. LINZBACH, J., *Verh. deutsch. Ges. Path.* **1951**, 252
42. PAPPENHEIMER, J. R., *Klin. Wschr.* **1955**, 362
43. PEASE, D. C., *Anat. Rec.* **118** (1954) 339
44. HALL, B. V., bei BARGMANN [39]
45. HEVESY, G., and C. F. JACOBSON, *Acta physiol. Scand.* **1** (1940) 11
46. WILBRANDT, W., *Ann. Rev. Physiol.* **9** (1947) 581
47. USSING, H. H., *Ann. Rev. Physiol.* **15** (1953) 1
48. FULTON, J. F., *A Textbook of Physiology.* 16th ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia-London 1950
49. WILDE, W. S., *Ann. Rev. Physiol.* **17** (1955) 17
50. HOUSSAY, B. H., *Human Physiology.* 2nd ed. McGraw-Hill, New York-Toronto-London 1955
51. HALPERN, B. N., and D. FRITEL, *Acta med. Scand.* **114** (1952) 15
- 51a. GROTTÉ, C., *Scand. J. Laborat. Clin. Invest.* **7** (1955) 59
52. EPPINGER, H., *Die Permeabilitätspathologie als Lehre vom Krankheitsbeginn.* Springer, Wien 1949
53. RÖSSLE, R., *Die seröse Entzündung.* *Verh. deutsch. Ges. Path.* **1944**, 1
54. FISCHER, A., *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.* **22** (1947) 178
55. DIXON, F. J., *Allergy* **25** (1954) 487
56. OEFF, K., *Z. exper. Med.* **123** (1954) 434; *Z. exper. Med.* **127** (1956) 484
57. ARMSTRONG, S. H., J. KUNKRAT, J. HERSHMAN, K. McLEOD, J. WOLTER and D. BRONSKY, *J. Laborat. Clin. Med.* **45** (1955) 51
58. FREYSCHMIDT, P., und H. G. MEHL, *Klin. Wschr.* **1955**, 798
59. SCHERMUND, H. J., in H. BARTELHEIMER und H. KÜCHMEISTER, *Kapillaren und Interstitium.* Georg Thieme, Stuttgart 1955
60. GITLIN, D., and W. H. BORGES, *Blood* **8** (1953) 679
61. FELIX, K., und E. SCHÜTTE, *Verh. deutsch. Ges. inn. Med.* **55** (1949) 191
62. CANNON, P. R., *Amer. J. Clin. Path.* **19** (1949) 99
63. NIKLAS, A., und K. HEMPEL, *Z. exper. Med.* **122** (1954) 399
64. WUNDERLY, CH., und F. WUHRMANN, *Schweiz. med. Wschr.* **1951**, 1102
65. CACHERA, R., et F. DARNIS, *Ann. méd.* **51** (1950) 509
66. RATZENHOFER, M., H. G. KLINGENBERG und E. SCHAUENSTEIN, *Virch. Arch.* **326** (1954) 135
67. GROSSE-BROCKHOFF, F., *Pathologische Physiologie.* Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950
68. WUNDERLY, CH., und F. WUHRMANN, *Plasma* **1** (1953) 27
69. GEYER, G., E. KEIBL und H. KÖLBL, *Z. exper. Med.* **122** (1954) 1
70. RÖCKL, H., M. METZGER und H. W. SPIER, *Klin. Wschr.* **1954**, 253
71. BARTELHEIMER, H., und W. SCHWARTZKOPFF, *Z. exper. Med.* **122** (1954) 478

72. MÜLLER, O., Die Pathologie der menschlichen Kapillaren. Nova acta Leopold. N. F. **12** (1943) 249
73. ZWEIFACH, B. W., B. E. LOEWENSTEIN and R. CHAMBERS, Amer. J. Physiol. **142** (1944) 80
74. ZWEIFACH, B. W., E. SHORR and M. M. BLACK, Ann. New York Acad. Sci. **56** (1953) 626
75. KÜCHMEISTER, H., und R. PIRTKIEN, Z. Kreisl.forsch. **43** (1954) 39
76. BARTELHEIMER, H., und. H. HANSEN, Z. exper. Med. **119** (1952) 476
77. SCHMID, H., Dtsch. Z. Verdauungs- usw. krh. **9** (1949) 68
78. ENGEL, D., J. Physiol. **99** (1941) 161
79. MENKIN, Y., Amer. J. Physiol. **129** (1940) 691
80. SCHWIEGK, H., und W. H. A. SCHÖTTLER, Klin. Wschr. **1947**, 360
81. KÜCHMEISTER, H., Erg. inn. Med. N. F. **4** (1953) 461
82. HENRY, J., J. GOODMAN, J. MEEHAN and R. FRANKEL, J. Clin. Invest. **26** (1947) 1119
83. OPIE, E. L., J. Exper. Med. **89** (1949) 185
84. GIBIAN, H., Erg. Enzymforsch. **13** (1954) 1
85. DAY, T. D., J. Physiol. **117** (1952) 1
86. FÖLDI, M., J. RUSZNAK, GY. SZABO und Zs. MAGYAR, Acta med. Acad. scient. Hungar. **6** (1954) 229
87. BENDA, L., und A. LOCKER, in H. BARTELHEIMER und H. KÜCHMEISTER, Kapillaren und Interstitium. Georg Thieme, Stuttgart 1955
88. FÖLDI, M., Zschr. inn. Med. **10** (1955) 483
89. KÜHNAU, J., in H. BARTELHEIMER und H. KÜCHMEISTER, Kapillaren und Interstitium. Georg Thieme, Stuttgart 1955
90. DANIELLI, H. F., J. Physiol. **98** (1940) 109
91. HÖBER, R., Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Stämpfli u. Cie., Bern 1947
92. BETHE, A., Allgemeine Physiologie. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952
93. MÜLLER, O., Die feinsten Blutgefäße des Menschen in gesunden und kranken Tagen. F. Enke, Stuttgart 1937
94. WITTE, S., Habil. Schrift Erlangen 1956
95. JÜRGENS, R., Schweiz. med. Wschr. **1949**, 817
96. COPLEY, A. L., Internat. Tgg. Thrombose und Embolie. Basel 1954
97. SUTER, H., Arch. Kreisl.forsch. **10** (1942) 339
98. ROBB-SMITH, A. H. T., Brit. Med. Bull. **11** (1955) 1
99. GORTER, E., Mschr. Kindergeneesk. **19** (1951) 407
100. IMPALLOMENI, G., Internat. Tgg. Thrombose und Embolie. Basel 1954
101. SAMUELS, P. B., and D. R. WEBSTER, Ann. Surg. **136** (1952) 422
102. JÜRGENS, R., und A. STUDER, Helv. physiol. pharmacol. acta **5** (1947) C 42
103. BRINKHOUS, K. M., Sang **25** (1954) 738
104. OWREN, P. A., Acta med. Scand. Suppl. **194** (1947) 1
105. ALEXANDER, B., and R. GOLDSTEIN, Amer. J. Med. **13** (1952) 255
106. FRANK, E., und N. BILHAN, Acta haemat. **3** (1950) 70
107. ALEXANDER, B., R. GOLDSTEIN, G. LANDWEHR and C. D. COOK, J. Clin. Invest. **30** (1951) 596
108. BEAUMONT, J. L., et J. BERNARD, Presse méd. **1952**, 1496

109. LANDWEHR, G., H. LANG and B. ALEXANDER, *Amer. J. Med.* **8** (1950) 255
110. STEFANINI, M., *Amer. J. Med.* **14** (1953) 64
111. NICOLA, P. DE, *Klin. Wschr.* **1951**, 278
112. LASCH, H. G., und L. ROKA, *Z. physiol. Chem.* **294** (1953) 30
113. LASCH, H. G., und L. ROKA, *Klin. Wschr.* **1954**, 460
114. McCLAGHRY, R. I., and W. H. SEEGER, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **80** (1952) 372
115. WARE, A. G. and G. F. LACHANTIN, *Physiol. Rev.* **34** (1954) 714
116. NICOLA, P. DE, *Internat. Symposium über hämorrhagische Diathesen, Wien 1955*
117. WINTERSTEIN, A., *Internat. Symposium über hämorrhagische Diathesen, Wien 1955*
118. LAKI, K., *Blood* **8** (1953) 845
119. ANDRUS, W. DE W., J. W. LORD JR. and J. T. KANER, *Science* **1940**, 48
120. CAGLIO, M., *Internat. Hämatol. Kongr. Paris 1954*
121. ODELL, T. T., F. G. TAUSCHE and J. FURTH, *Acta haemat.* **13** (1955) 45
122. DOSAI, R. G., W. SMALL, I. MEDNICOFF and W. DAMESHEK, *Europ. Hämatol. Kongr. Freiburg 1955*
123. CRADDOCK, C. G., W. S. ADAMS, S. PERRY and J. S. LAWRENCE, *J. Laborat. Clin. Med.* **45** (1955) 906
124. LEEKSMA, C. H. W., and J. A. COHEN, *Nature* **175** (1955) 552
125. HIRSCH, E. O., and F. H. GARDNER, *J. Clin. Invest.* **30** (1951) 649
126. RAPPORT, M. M., A. A. GREEN, and I. H. PAGE, *Science* **108** (1948) 329
127. UDENFRIED, S., and H. WEISSBACH, *Fed. Proc.* **13** (1954) 412
128. BASERGA, A., *Sang* **25** (1954) 742
129. BIGELOW, F. S., *J. Laborat. Clin. Med.* **43** (1954) 759
130. WARE, A. G., J. L. FAHEY and W. H. SEEGER, *Amer. J. Physiol.* **154** (1948) 140
131. LÜSCHER, E. F., *Internat. Symposium über hämorrhagische Diathesen, Wien 1955*
132. ACKROYD, J. F., *Progr. Allergy* **3** (1952) 531

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Eine neue Methode zur Untersuchung der Capillarpermeabilität

Von

SIEGFRIED WITTE

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Januar 1957)

Die Capillarpermeabilität kann man indirekt durch Beobachtung des Blutes auf verschiedene Weise untersuchen, indem man zum Beispiel die Konzentration injizierter Farbstoffe oder radioaktiv markierter Substanzen verfolgt, oder das Venenblut mit dem Arterienblut oder der Lymphe vergleicht, oder die Veränderung der Blutzusammensetzung nach Stauung untersucht. Ebenso als indirekt und summarisch sind die den Gewebsfaktor erfassenden Methoden zu beurteilen, die Wägung einer Extremität nach Eingriffen, die die Capillarpermeabilität ändern, die Untersuchung des Gewebssaftes in einer Cantharidenblase, in Ödemflüssigkeit oder in Gewebsextrakten. Allein die direkte mikroskopische Beobachtung der Gefäße läßt über das Verhalten der Capillaren, der Strömung und über das mögliche Austreten der einzelnen Blutbestandteile sichere Aussagen zu. Da man beim Menschen Capillargebiete in einiger Ausdehnung bei der notwendigen starken Vergrößerung mit Ausnahme der Conjunctiva nicht beobachten kann, ist man bei Capillaruntersuchungen weitgehend auf Tierversuche angewiesen. Unter den Warmblütern sind mehrere entsprechende Versuchsanordnungen entwickelt worden, so die Untersuchungen an der Mesenterialplatte und den Pankreasläppchen von Kaninchen^{12,22} und von Katzen²⁴, die Untersuchung der Mesoappendix und der Skelettmuskeln der Ratte^{6, 28}, der Backentasche des Hamsters^{10, 16}, der transparenten Rückenhautkammer der Maus¹ oder dem Rattenohr⁷, am Mesotestis der Ratte¹¹, der Kaninchenlunge²⁰, dem Fledermausflügel^{15, 18}, um nur einige wichtige oder neuere Untersuchungen zu nennen. Da die Capillarpermeabilität normalerweise farblose und deshalb unter dem Mikroskop unsichtbare Stoffe betrifft, muß man durch Anfärben diese Vorgänge sichtbar zu machen versuchen. Die üblichen Farbstoffe (Diachrome) sind in der sehr geringen Schichtdicke der zu untersuchenden Flüssigkeitsbewegungen bei verträglichen Konzentrationen nicht ausreichend nachzuweisen. Es lag deshalb nahe, Fluoreszenzfarben zu verwenden, weil sich im Fluoreszenz-

mikroskop fluoreszierende Substanzen noch in starken Verdünnungen beobachten lassen. Derartige Beobachtungen kann man nur an durchsichtigen dünnen Objekten im durchfallenden Licht anstellen. Deshalb wählten wir als Untersuchungsobjekt die Mesenterialplatte der weißen Ratte, in der die Gefäße in einer Schicht flach ausgebreitet liegen und das Gewebe nur aus einer dünnen, zellarmen Membran von lockerem Bindegewebe besteht, so daß wir an diesem Modell leicht übersehbar die Beziehungen zwischen Gefäßen und Interstitium beobachten können. In Weiterentwicklung der Versuchsanordnung von CHAMBERS u. ZWEIFACH⁶ haben wir eine Methode ausgearbeitet, die eine möglichst schonende, konstante Beobachtungsmöglichkeit unter guten optischen Bedingungen ergibt. Die Weiterentwicklung besteht hauptsächlich in einer durchspülten Zellophankammer, in die der Darm vorgelagert wird.

Operations- und Beobachtungstechnik

Junge weiße Ratten aus der gleichen Zucht (120 g) werden in Äther- oder Numalnarkose auf einem schmalen Brett in Rückenlage aufgespannt, die Bauch-

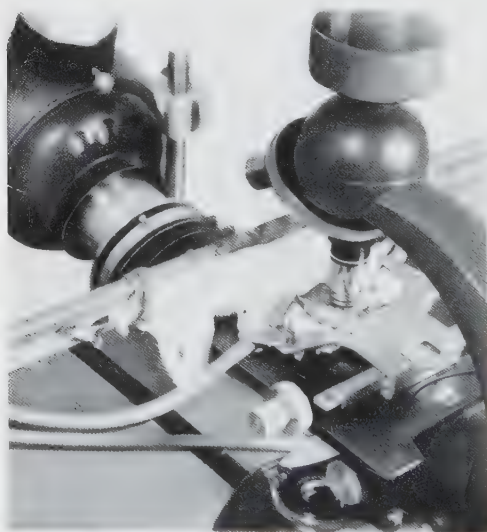


Abb. 1. Übersicht der Versuchsanordnung zur Capillaruntersuchung. Mesenterium in der Zellophankammer vorgelagert, Kammerspülung angeschlossen. Beleuchtung von der getrennt aufgestellten Fluoreszenzleuchte oder der im Mikroskopfuß untergebrachten Einbauleuchte über bzw. durch den teildurchlässigen Spiegel

höhle durch Medianschnitt eröffnet und 2 offene Nähte am oberen und unteren Wundwinkel gelegt. Dann wird eine vorliegende Dünndarmschlinge nach einer kleinen Incision an der vom Mesenterialansatz abgekehrten Darmwandseite durch Einschieben eines U-förmig gebogenen, 6 cm langen Gummikatheters ausgespannt und in eine mit körperwarmer Ringerlösung gefüllte Zellophankammer eingeführt⁵. Diese Kammer besteht aus 2 halbkreisförmigen, flachen Messingrahmen, in die Zellophanhäutchen eingeklebt sind. Die Rahmen werden dann miteinander verschraubt. Die offene Seite der

halbkreisförmigen Kammer wird durch einen ovalen Ring gebildet, der aus 2 rechtwinklig aufeinander gelöteten Messingreifen besteht. Auf diesen Ring passen die beiden mit Zellophan bespannten Rahmen, in die nach gegenüberliegenden Seiten

noch 2 Kanülen eingelassen sind. Die mit der Darmschlinge beschickte Kammer wird dann mit ihrer nach außen umgebogenen, ringförmigen ovalen Öffnung unter die Bauchhaut eingepaßt und durch Zuziehen der beiden vorbereiteten Nähte unter Verschließen der Bauchwunde fixiert. Das Tier lagert man auf dem Objekt-

tisch des angewärmten Mikroskops, so daß die Zellophankammer auf die erweiterte Öffnung über den Kondensor zu liegen kommt. Während des Versuchs werden Tier und Mikroskop durch einen Wärmestrahler warmgehalten. Durch die beiden Kanülen schließt man die Kammer an das Spülsystem an, das aus einem Thermostaten mit Pumpe auf der einen Seite und aus einer Saugvorrichtung auf der gegenüberliegenden Seite besteht. Der Thermostat ist mit Ringerlösung, die mit Natriumbikarbonat auf pH 7,3 gebracht ist, gefüllt und so eingestellt, daß bei der gewählten Durchlaufgeschwindigkeit in der Kammer eine Temperatur von 37,5°C herrscht. Das Brett, auf dem das Tier aufgespannt liegt, wird hochkant vom Beobachter abgewendet, getrennt vom Mikroskop fixiert und die Kammer in dem üblichen Objektträgerhalter so eingeklemmt, daß sie den Bewegungen des Kreutztisches folgt (Abb. 1).

Mikroskop

Wir verwendeten ein Standardmikroskop (Zeiß-Winkel). Die Beleuchtung bestand aus der im Mikroskopfuß eingebauten Niedervoltlampe für Hellfeld- und Phasenkontrastbeobachtung und aus einem getrennt vom Mikroskop in einem Gehäuse eingebauten Quecksilberhöchstdruckbrenner (Osram HbO 200 mit einer mittleren Leuchtdichte von 25000 sb) für die Fluoreszenzbeobachtung. Vom Quecksilberbrenner gelangt das Licht durch den Kollektor und durch die verschiedenen, später zu beschreibenden Erregerlichtfilter auf einen teildurchlässigen Spiegel, der auf der im Mikroskopfuß eingebauten Beleuchtungseinrichtung aufgestellt ist und der es in den Kondensor wirft. Man kann auf diese Weise schnell zwischen Hellfeldbeleuchtung, deren Licht durch den teildurchlässigen Spiegel hindurchtritt, und Fluoreszenzbeleuchtung wechseln. Bei dem Kondensor handelt es sich um einen Spezialkondensor für Hellfeld mit Irisblende und Phasenkontrast (n. A. 0,9), dessen Schnittweite einen Abstand von 6 mm zwischen Kondensorfrontlinse und Objektunterseite erlaubt. Dadurch kann man bei dem in der Zellophankammer befindlichen Präparat eine Beleuchtung nach dem Köhlerschen Prinzip erreichen²⁷. Als optisches System benutzen wir ein Phasenkontrastobjektiv 10×, n. A. 0,25 oder ein Apochromat 25×, n. A. 0,63, D = 0,17 in Verbindung mit einem Kompensationsokular 8× oder einem Kompensationsplanokular 12,5× an einem monokularen Schrägtubus. Mit der beschriebenen Anordnung ist auch noch eine einwandfreie Beobachtung mit einem Ölimmersionsobjektiv möglich, wobei wir ein Phasenkontrastobjektiv Neofluar 100×, n. A. 1,3 verwendeten.

Zum mikrophotographischen Arbeiten wird an Stelle des Schrägtubus ein gerader Tubus auf das Mikroskop aufgesetzt und mit einer Aufsetzkamera (Zeiß) mit Einstellokular, Strahlenteilungssystem und Kleinbildkamera verbunden. Die Strahlenteilungseinrichtung ist für Fluoreszenzaufnahmen eingerichtet, wobei das Licht entweder ganz in die Kamera, ganz in das Beobachtungsokular oder ganz auf eine Photozelle geleitet wird. Die Photozelle ermöglicht in Verbindung mit einem Lichtmeßgerät nach einer Eichung an Hand einer Rechenscheibe eine Messung der Belichtungszeiten. Diese Anordnung gestattet für Kleinbildfilm normaler Empfindlichkeit ($17/10^9$ DIN) bei der unten näher beschriebenen Fluoreszenzbeleuchtung mit Objektiv 10× und Okular 8× Expositionszeiten von durchschnittlich 5–10 sec.

Für vergleichende Mikrophotogramme im Hellfeld verwendeten wir die Elektronenblitzeinrichtung (Zeiß). Zu diesem Zweck wird nur an Stelle des Quecksilberbrenners ein Lampengehäuse mit einer Spezialblitzröhre an das unveränderte Mikroskop herangebracht und der Kamerverschluß über eine Synchronvorrichtung mit der Blitzauslösung verbunden. Die Helligkeitsregelung für Blitzaufnahmen erfolgte unter Kontrolle der vorher geeichten Lichtmeßeinrichtung mit Hilfe der Aperturblende, durch Graugläser oder 2 gegeneinander verdrehbare Polarisationsfilter.

Fluoreszenzfilter

Für die Fluoreszenzbeobachtung wurde folgende Filterkombination verwendet. Wegen des relativ „kalten“ Lichtspektrums des Quecksilberbrenners HbO 200 (Abb. 2) kann man auf eine Kühlkuvette verzichten. Es hat sich allerdings als vorteilhaft erwiesen, zwischen Kollektor und Erregerlichtfilter ein Blauklarglas als Wärmeschutzfilter einzuschalten.

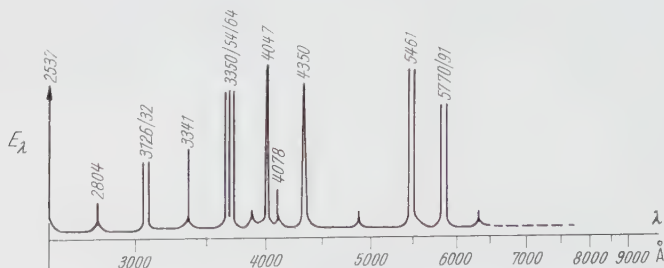


Abb. 2. Die spektrale Emission der verwendeten Quecksilber-Höchstdrucklampe (nach A. KRIEG¹⁴)

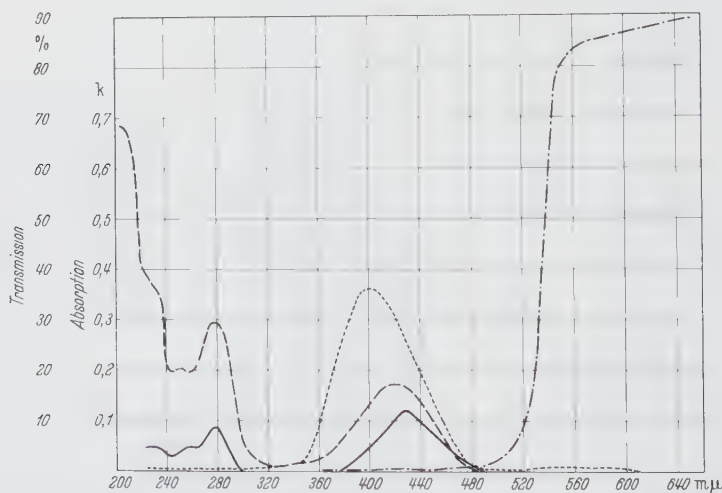


Abb. 3. Die spektrale Transmission der Fluoreszenzfilter, verglichen mit der Extinktion von Brillantsulfoflavin, ----- 2 Erregerfilter BG 12, je 3 mm dick, — — — Sperrfilter OG 5, ————— Brillantsulfoflavin 0,04 % in physiologischer Kochsalzlösung, 1: 50 verdünnt, ————— Brillantsulfoflavin 0,04 % in Rattenplasma, Vergleichslösung Rattenplasma, beide 1: 50 mit aqua dest. verdünnt

Für die Mikroskopie bei blauviolett angeregter Fluoreszenz, die hier wegen ihrer stärkeren Objektivhelligkeit und der gegenüber dem reinen Ultraviolett ungleich geringeren Schädlichkeit für das biologische Objekt zu bevorzugen war, kamen als Erregerlichtfilter 2 Blaugläser BG 12 von je 3 mm Schichtdicke in Betracht, deren spektrale Transmission in Abb. 3 wiedergegeben sind. Als Sperrfilter, welches das zur Anregung benutzte Blauviolett vom Eindringen ins Auge des Untersuchers ausschaltet, wurde in das Okular ein Orangeglas OG 5 eingeschaltet, dessen spektrale Durchlässigkeit ebenfalls in Abb. 3 eingezeichnet ist. Man sieht, daß sich die Transmissionskurven von Erreger- und Sperrfilter nicht überschneiden, und daß nur

Licht mit größerer Wellenlänge als 5400 Å ins Auge gelangt^{13, 14, 21}. Um Schädigungen des Objektes hintanzuhalten, die eventuell durch lange einwirkendes Blauviolettlcht oder durch photodynamische Einflüsse der Fluorochrome verursacht werden könnten², wurde die Fluoreszenzbeleuchtung nur während der möglichst kurz gewählten Beobachtungszeiten durch das Objekt geleitet.

Fluoreszenzfarbstoffe

Über die Verwendungsmöglichkeiten fluoreszierender Farbstoffe in der intravitalen Mikroskopie fanden wir in der Literatur nur wenig geeignete Hinweise. Bei Tierversuchen wurde meist das Fluorescein verwendet, das allerdings nur beim Kaltblüter brauchbar ist²³, da es beim Warmblüter sofort nach intravenöser Zufuhr die Gefäßbahn verläßt und das Gewebe diffus anfärbt. Ähnlich verhält sich das Aesculin²⁶. Auch Trypflavin tritt sofort in das Gewebe über⁸. In einer capillarmikroskopischen Arbeit aus jüngerer Zeit¹² wird die Frage nach geeigneten Fluoreszenzfarbstoffen für Capillarpermeabilitätsuntersuchungen noch als unbeantwortet bezeichnet. Es war also notwendig, nach einem geeigneten Farbstoff zu suchen.

Die Farbstoffe wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst in einer Menge von 0,5—0,8 cm³/100 g Körpergewicht intravenös in die Schwanzvene injiziert und das Mesenterialpräparat im Fluoreszenzlicht unter dem Mikroskop beobachtet.

Von basischen Farbstoffen untersuchten wir:

1. Das Coriphosphin (0,3%) mit einer gelbgrünen Fluoreszenz. Es erwies sich als toxisch und führte schon in 1—2 min zum Atemstillstand und Tod. Die gelbgrüne Fluoreszenz hatte sich in dieser Zeit diffus im Gewebe ausgebreitet.

2. Auramin (0,3%), ein basischer Farbstoff, der nur in adsorbiertem Zustand goldgelb fluoresciert, erwies sich als nicht toxisch, führte aber nur zu einer schwachen, diffusen gelblichen Fluoreszenz des Bindegewebes im Verlauf von 1/2 Std.

3. Der Acridinfarbstoff Atebrin (0,1%) erwies sich als zu toxisch.

4. Rhodamin B (0,3%), ein schwach basischer, lipophiler, orangeroter Farbstoff ergab keine sichtbare Fluoreszenz in den Gefäßen.

Basische Farbstoffe eignen sich also anscheinend nicht zur intravasalen Fluorochromierung. Dies war auf Grund der Angaben in der Literatur als wahrscheinlich zu erwarten gewesen^{3, 13, 25}.

Bei den sauren Farbstoffen ist im allgemeinen die Affinität zum Serum-eiweiß größer, so daß diese Farbstoffe aussichtsreicher erschienen.

5. Das Fluorescein (5%) ist nicht toxisch. Es zeigte nach intravenöser Anwendung eine schöne laubgrüne Fluoreszenz, die aber sofort die Gefäße verläßt und zu einer starken diffusen Anfärbung des Gewebes führt. Für Permeabilitätsversuche ist der Farbstoff also nicht geeignet.

6. Primulin (0,1%) führt zu einer leuchtenden gelblichen Fluoreszenz der Gefäße. Die Strömung in den Gefäßen verlangsamt sich aber schnell

stimmt gut mit dem Durchlässigkeitsbereich der verwendeten Blau-violett-Erregerfilterkombination überein. Das angeregte Fluoreszenzspektrum des Brillantsulfoflavin zeigte ein breites Band zwischen 5000—6600 Å mit einem Maximum bei 5800 Å (Abb. 4a). Dieses Maximum liegt im Durchlässigkeitsbereich des gewählten Okularsperrfilters.

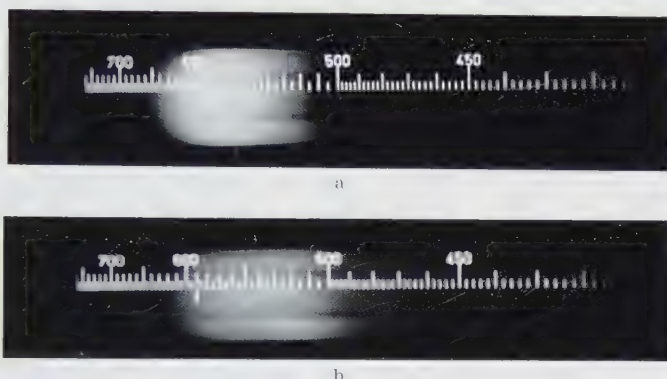


Abb. 4. Fluoreszenzspektrum von Brillantsulfoflavin, a in physiologischer Kochsalzlösung, b in Rattenoxalatplasma gelöst

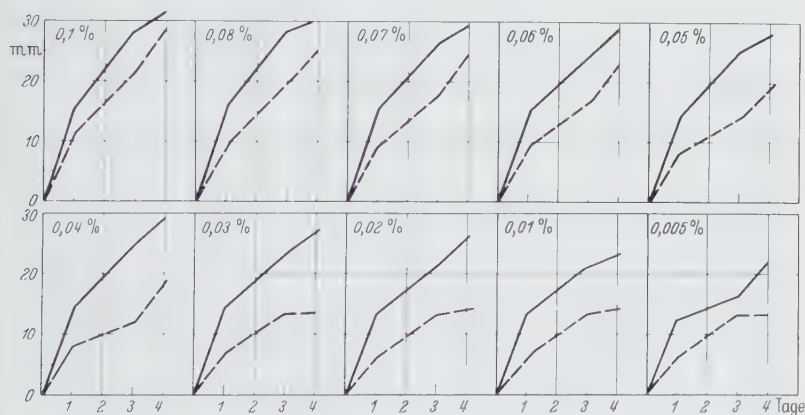


Abb. 5. Diffusionskurven von Brillantsulfoflavinlösungen 0,1% bis 0,005%, in Gelatine-gallerte über 4 Tage. Ausgezogene Kurven: Farbstoff in physiologischer Kochsalzlösung, Unterbrochene Kurven: Farbstoff in Rattenoxalatplasma

Das Fluoreszenzspektrum der Farbstofflösung wurde an einem zwischen Objektträger und Deckgläschen ausgebreiteten Tropfen im Fluoreszenzmikroskop mit Hilfe eines Ultraviolettfilters UG 1 von 3 mm Dicke durch ein auf das Okular aufgesetztes Pupillenspektroskop beobachtet und fotografiert.

Brillantsulfoflavin ist lipoidunlöslich und zeigt keinen Konzentrations-effekt, nimmt also bei stärkerer Konzentration an Fluoreszenz nicht ab.

In der Literatur fanden wir Brillantsulfoflavin nur bei STRUGGER²⁵ erwähnt, der diesen Farbstoff für die elektive Färbung von Bakterien-sporen als gut geeignet angibt.

Es war deshalb notwendig, den Farbstoff näher auf seine Bindungs-fähigkeit an die Plasmaeiweiße zu prüfen. Nach dem Vorgehen von BENNHOLD³ wurde zuerst seine Diffusion in Gelatinegallerte untersucht.

In einer Reihe von Reagensgläsern überschichtet man eine 5%ige Gelatine-gallerte (pH 7,4) mit abgestuften Farbstofflösungen und mißt die Eindringungstiefe des Farbstoffs in die Gelatine. In einer 1. Reihe wird der Farbstoff in Kochsalz-lösung in Konzentrationen von 0,1—0,005% gelöst, in einer 2. Reihe in gleichen

Verdünnungsstufen durch Aufschwemmen des Farbstoffs in Rattenplasma hergestellt. Das Eindringen der Farbstoffverdün-nungen in die Gelatine wurde im Ultraviolettlicht gemessen und während 4 Tagen bei 20°C be-obachtet (Abb. 5).

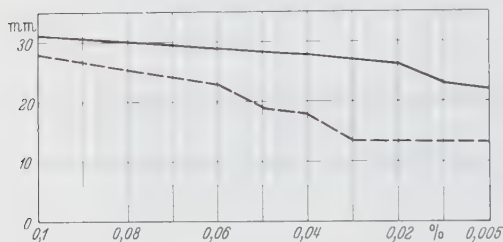


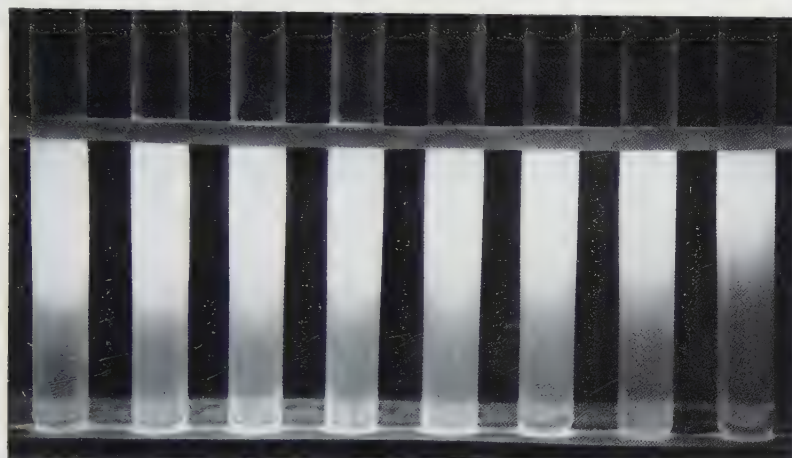
Abb. 6. Die Eindringungstiefe von Brillantsulfoflavinlösungen verschiedener Konzentration, gemessen 4 Tage nach Überschichten auf Gelatinegallerte. Ausgezogene Kurve: Farbstoff in physiologischer Kochsalzlösung. Unterbrochene Kurve: Farbstoff in Rattenoxalatplasma

Die wäßrigen Brillant-sulfoflavinlösungen dringen schnell in die Gelatinegal-lerte ein als Zeichen für die feine Dispersität des Farb-stoffs in wäßriger Lösung.

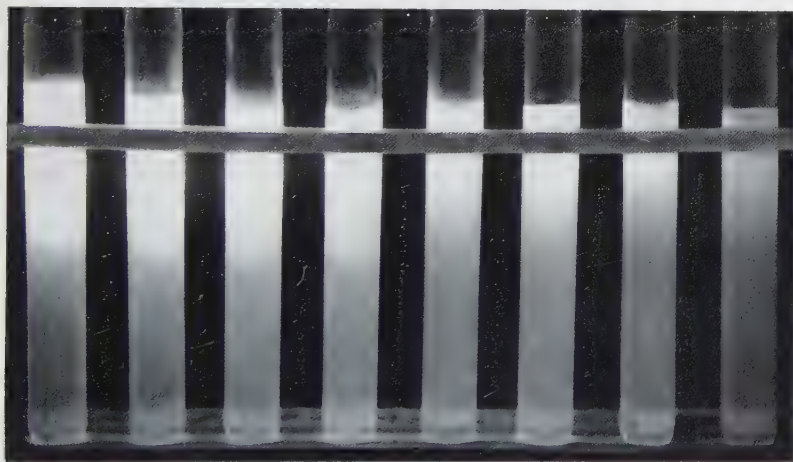
Die mit Rattenplasma angesetzten Brillantsulfoflavinverdünnungen sind demgegenüber verzögert und weniger weit in die Gelatine ein-gedungen. Die stärkeren Konzentrationen zeigen noch ein relativ tiefes Eindringen, bei dem die gefärbte Zone sich ebenso wie bei den wäßrigen Farbstofflösungen allmählich in der farblosen Gelatine ver-liert. Bei einer Konzentration von 0,03% Brillantsulfoflavin in Plasma und darunter bleibt die Eindringungstiefe gleich (Abb. 6). Auch ist von 0,03% an die Grenze der fluoreszierenden Zone scharf und fällt offenbar mit der Grenze des diffundierten Plasmas zusammen (Abb. 7). Bei stärkeren Konzentrationen ist ein Teil des Farbstoffs mehr oder weniger noch frei diffundibel und überschreitet die Diffusionsgrenze des Plasmas. Unter einer 0,03%igen Konzentration ist dagegen der Farbstoff quanti-tativ an das Plasma gebunden und dringt nur mit diesem in die Gelatine ein. Die Grenze der Farbstoffbindungsfähigkeit des Rattenplasmas für Brillantsulfoflavin liegt also bei 0,03%.

Spektrophotometrisch zeigte der eiweißgebundene Farbstoff gegen-über der wäßrigen Farbstofflösung eine verminderte Absorption im kurz-welligen Ultraviolett, wodurch das Maximum der Absorption im Blau-violett zwischen 4200—4300 Å deutlicher wird (Abb. 3). Dieser Gipfel fällt mit der Durchlässigkeit der Erregerlichtfilter zusammen, so daß eine maximale Fluoreszenzanregung gewährleistet ist. Der im Plasma gelöste

Farbstoff zeigte auch in seinem Fluoreszenzspektrum, an einem Farbstoff-Plasmatropfen im Mikroskop durch ein aufgesetztes Pupillenspektroskop beobachtet, entsprechend seiner leicht veränderten Absorption eine



a



b

Abb. 7. Die Diffusion von Brillantsulfoflavinlösungen verschiedener Konzentration in Gelatinegallerte, 4 Tage nach Überschichten im Ultraviolettlicht beobachtet. a Farbstoff in physiologischer Kochsalzlösung, b Farbstoff in Rattenoxalatplasma

geringe Verschiebung mit einem breiten Band zwischen 4750 und 6150 Å mit einem Maximum bei 5400 Å, gegenüber der wäßrigen Brillantsulfoflavinlösung also etwas zum Grün hin verschoben (Abb. 4b).

Es war nun zu untersuchen, ob der Farbstoff bevorzugt an einzelne Eiweißfraktionen gebunden wird. Nach BENNHOLD³ benutzen saure

Farbstoffe das Serumalbumin bevorzugt als „Vehikel“. Wie aus der bei STRUGGER²⁵ angegebenen Capillarprobe durch Beobachtung der capillären Ausbreitung eines Tropfens der wäßrigen Farbstofflösung in Filterpapier

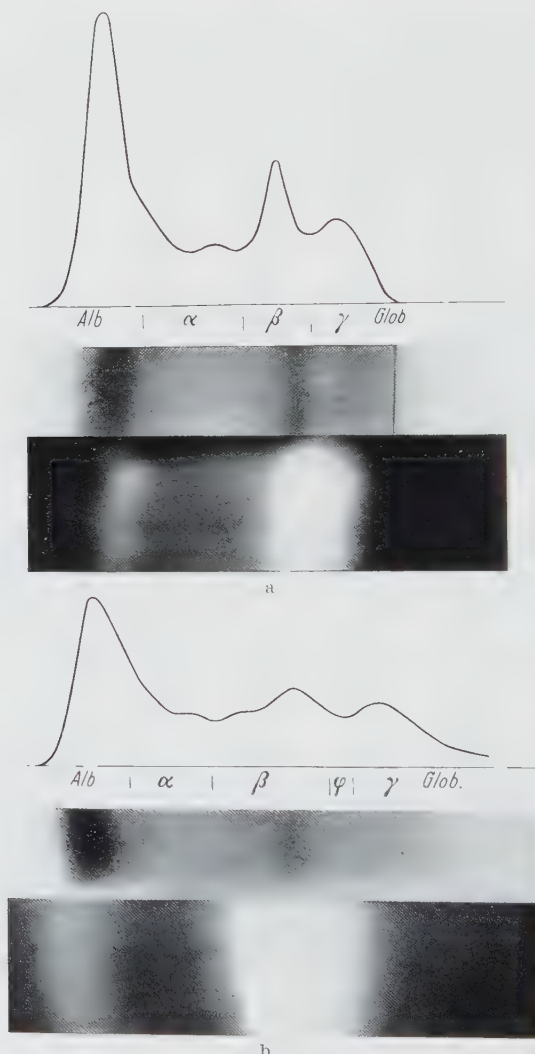


Abb. 8. Papierelektrophorese von a Serum, b Heparinplasma einer Ratte, die 1,6 cm³/100 g Körpergewicht Brillantsulfoflavin (0,1 %) intravenös injiziert erhielt. Jeweils Extinktionskurven, mit Amidoschwarz angefärbte und ungefärbt im Ultraviolettlicht beobachtete Streifen untereinander

hervorgeht, wird Brillantsulfoflavin als anodischer Farbstoff vom Filterpapier nicht gebunden und breitet sich gleichzeitig mit dem Lösungsmittel auf dem Filterpapier aus. Man kann deshalb die Prüfung der Eiweißbindung mit der Papierelektrophorese vornehmen.

2 cm³ der 0,1%igen Brillantsulfoflavinlösung in physiologischer Kochsalzlösung wurde einer 125 g schweren Ratte intravenös injiziert und das Blut nach 10 min durch Herzpunktion gewonnen. Ein Teil wurde zur Serumgewinnung der Spontanerinnung überlassen, ein anderer Teil durch Zusatz einiger Tropfen Heparin (Liquemin-Roche) ungerinnbar gemacht und das Plasma abzentrifugiert. Wenn man das Plasmavolumen des Tieres auf 5 cm³ schätzt (4 cm³/100 g Körpergewicht), so betrug die Farbstoffkonzentration im Plasma 0,03%, hatte also die Bindungsfähigkeit des Plasmas noch nicht überschritten.

Die am Tage nach der Blutabnahme ausgeführte Papierelektrophorese dieses Plasmas zeigte das Maximum der Fluoreszenz im Bereich der β -Globuline (Abb. 8). Die Albumine hatten ebenfalls einen beträchtlichen Farbstoffanteil gebunden, während eine geringe Fluoreszenz auch im Bereich zwischen beiden Maxima diffus ausgebreitet war. Der Farbton der Fluoreszenz war durch die Albuminbindung etwas in Richtung eines matten Gelb verändert, während die globulingebundenen Farbstoffanteile die bekannte laubgrün-gelbliche Fluoreszenz besaßen. Unterschiede in der Bindungsart zwischen Plasma und Serum fanden sich nicht. Der Versuch, der mehrmals wiederholt wurde, zeigte also, daß Brillantsulfoflavin quantitativ an die Serumproteine gebunden wird, wobei das Maximum der Bindung beim β -Globulin und beim Albumin liegt. Das γ -Globulin zeigte keine Bindung. An α -Globulin erfolgte nur eine geringe Bindung. Andere saure Farbstoffe zeigten ähnliche Bindungsverhältnisse¹⁹. Eine Vorfraction, d. h. ein über das Albumin hinaus anodisch wandernder freier, nicht an Eiweiß gebundener Farbstoffanteil, trat nicht auf. Die Bindung von Brillantsulfoflavin an die Plasmaproteine erwies sich also als fest⁴.

Über das Verhalten des Farbstoffes nach intravenöser Injektion im Kreislauf des gesunden und in seinen Gefäßpermeabilitätsverhältnissen geschädigten Tieres soll in weiteren Arbeiten berichtet werden.

Zusammenfassung

Nach einem Überblick über bisher verwendete Methoden zur mikroskopischen Untersuchung von Blutcapillaren wird eine eigene Methode angegeben, bei der die in einer kontinuierlich durchströmten Zellophan-kammer vorgelagerten Mesenterialgefäße der weißen Ratte im durchfallenden Licht bei allen mikroskopischen Vergrößerungen beobachtet werden können. Es gelang, einen Fluoreszenzfarbstoff aufzufinden, der nicht toxisch ist, nach intravenöser Anwendung die Blutgefäße bei Blauviolettbeleuchtung gut zur Darstellung bringt und zur Untersuchung von Capillarpermeabilitätsvorgängen geeignet ist. Die Eigenschaften des Fluorochroms, des gelblichen Brillantsulfoflavin, und die zu seiner Beobachtung notwendige Fluoreszenzeinrichtung werden untersucht. Der Farbstoff erwies sich bis zu einer Konzentration von 0,03% an die Plasmaeweißkörper, bevorzugt an Albumin und β -Globulin als fest gebunden.

Literatur

- ¹ ALGIRE, G. H., and F. Y. LEGALLAIS: J. Nat. Cancer Inst. (Bethesda) **10**, 225 (1949). — ² ALGIRE, G. H., and J. U. SCHLEGEL: J. Cellul. a. Comp. Physiol. **35**, 95 (1950). — ³ BENNHOLD, H.: Erg. inn. Med. **42**, 273 (1932). — ⁴ BENNHOLD, H., H. OTT u. M. WICH: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 11. ⁵ BUSSE-GRAWITZ, H.: Dtsch. med. Wschr. **1952**, 1498. — ⁶ CHAMBERS, R., and B. W. ZWEIFACH: Amer. J. Anat. **75**, 173 (1944). — ⁷ CLARK, E. R., and E. L. CLARK: Amer. J. Anat. **49**, 441 (1932). — ⁸ DONAT, K., u. R. PIETKIN: Klin. Wschr. **1953**, 670. — ⁹ EPPINGER, H.: Die Permeabilitätspathologie als Lehre vom Krankheitsbeginn. Wien: Springer 1949. — ¹⁰ FULTON, G. P., R. G. JACKSON and B. R. LUTZ: Science **105**, 361 (1947). — ¹¹ GROSS, F., u. H. HAEFELI: Helvet. physiol. Acta **10**, C 4 (1952). — ¹² ILLIG, L.: Z. exper. Med. **126**, 249 (1955). — ¹³ KRIEG, A.: Klin. Wschr. **1953**, 350. — ¹⁴ Z. wiss. Mikrosk. **62**, 256 (1955). — ¹⁵ LIEB, W.: Photogr. u. Forschg. **6**, 182 (1955). — ¹⁶ LUTZ, B. R.: Boston Univ. Lect. 11. 12. 50. — ¹⁷ Mitteilung der Farbenfabriken Bayer. — ¹⁸ NICOLL, P. A., and R. L. WEBB: Ann. New York Acad. Sci. **46**, 687 (1946). — ¹⁹ OTT, H.: Ärztl. Forsch. **6**, 177 (1952). — ²⁰ PFAFF, W., u. W. HEROLD: Grundlagen einer neuen Therapieforschung der Tuberkulose. Leipzig: G. Thieme 1937. — ²¹ RICHARDS, O. W.: In R. C. MELLORS, Analytical Cytology. New York-Toronto-London: McGraw-Hill 1955. — ²² RICKER, G.: In ABDERHALDEN, Hb. d. biologischen Arbeitsmethoden, VIII, 509. Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1925. — ²³ ROLLER, D., u. B. SCHÖBER: Z. exper. Med. **100**, 547 (1937). — ²⁴ SAUNDERS, E. A., and M. H. KNISELY: Arch. of Path. **58**, 309 (1954). — ²⁵ STRUGGER, S.: Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover: M. u. H. Schaper 1949. — ²⁶ TEICHMANN, K.: Z. exper. Med. **110**, 732 (1942). — ²⁷ ZOLLINGER, H. U.: Experientia **8**, 78 (1952). — ²⁸ ZWEIFACH, B. W., and D. B. METZ: Angiology **6**, 282 (1955).

Privatdozent Dr. SIEGFRIED WITTE, Erlangen, Krankenhausstraße 12,
Medizinische Universitätsklinik

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Capillarpermeabilität

Von

SIEGFRIED WITTE

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Juni 1957)

In einer früheren Arbeit¹¹ wurde eine Methode zur Untersuchung der Capillarpermeabilität angegeben, die auf der Anfärbung des Blutplasmas mit dem Fluoreszenzfarbstoff Brillantsulfoflavin beruht. Als Beobachtungsobjekt wurden die in eine kontinuierlich durchströmte Zellophan-kammer vorgelagerten Mesenterialgefäße der weißen Ratte verwendet. Es ergab sich nun die Frage, wie sich die Permeabilitätsverhältnisse beim gesunden oder spontan geschädigten, nicht vorbehandelten Tier darstellen und welches die morphologisch faßbaren Kriterien einer normalen oder pathologisch gesteigerten Capillarpermeabilität sind.

Die Methodik der mikroskopischen Untersuchung wurde bereits dargestellt¹¹.

Die Fluorochromierung beim gesunden Tier

Den unter dem Mikroskop liegenden Ratten wurde das Fluorochrom Brillantsulfoflavin, 0,1%ig in physiologischer Kochsalzlösung, in eine Schwanzvene injiziert. Die Menge betrug 0,3–0,5–0,8 ml/100 g Körpergewicht.

Man beobachtete das erste Erscheinen der Fluoreszenz in den Gefäßen der Mesenterialplatte durchschnittlich nach 7 sec. Von den größeren Gefäßen breitete es sich schnell in die kleinen Arterien und die Arteriolen aus. Dabei sah man die helleuchtende gelbgrünliche Fluoreszenz vor allem im Randstrom der Gefäße, der bei normaler Strömung von dem zellfreien fluoreszierenden Blutplasma gebildet wird, während in der Gefäßmitte die fluoreszenzlöschenden Erythrocyten als dunkle Säule fließen. Von den sich verzweigenden Arteriolen gelangt die Fluoreszenz nicht gleichmäßig in das Capillarbett, sondern fließt meist zuerst durch einige bevorzugte Gefäße, die als anscheinend direkte Fortsetzung der kleinsten Arterien in kleine Sammelvenen übergehen. Diese Beobachtung bestätigt die Vorstellung von ZWEIFACH¹² über die „Durchgangskanäle“. Die echten Capillaren füllen sich erst allmählich innerhalb der folgenden 5–20 sec, wobei

zum Teil einige Capillaren nur sehr zögernd oder überhaupt nicht durchströmt zu werden scheinen, weil sich in ihnen die Fluoreszenz nur gering oder gar nicht ausbreitet. Capillaren gehen sowohl von den kleineren Arterien und Arteriolen als auch von dem ganzen Verlauf des bevorzugten Kanals, dessen proximaler Teil auch Metarteriole genannt wird, ab. Diese Abzweigungen verlaufen häufig ungefähr rechtwinklig zum arteriellen Gefäß. Die Capillaren verzweigen und verbinden sich untereinander mehrfach. Sie münden dann einzeln oder als Postcapillaren zusammenfließend in die Venolen und kleinen Sammelvenen. Ein periodischer Wechsel in den Durchströmungsverhältnissen eines Capillargebietes kann vorkommen, ohne daß man sichere Ursachen dafür im Sinne einer Sphinctertätigkeit an den Präcapillaren beobachten kann. Manchmal werden Capillaren auch nur von einem erythrocytenfreien Plasmafaden durchströmt, wobei das Haargefäß dann besonders deutliche Fluoreszenz besitzt, während es sich im Hellfeld kaum darstellt.

In den auf die Farbstoffinjektion folgenden 5—10 min ist eine Ausbreitung der Fluoreszenz extravasal nicht zu beobachten. Nach dieser Zeit sehen wir in den Lymphgefäßen, die bei Hellfeldbeobachtung deutlich am Rande des mesenterialen Fettgewebes oder auch frei im Netz verlaufend als helle, dünnwandige, corpuscularfreie Gefäße auszumachen sind, in einem Teil der Fälle eine zarte hellgelbgrüne Fluoreszenz auftreten, die die Lymphgefäße vom Darm her anzufärben beginnt. Sie wird mit den peristaltischen Kontraktionsbewegungen der Lymphgänge, die unabhängig von der Darmperistaltik ablaufen, langsam in Richtung der größeren Lymphgefäßstämme fortbewegt. Der Farbstoff ist also allmählich im Quellgebiet dieser Lymphgefäße aus den Blutcapillaren durch das Interstitium in die Lymphräume übergetreten. Da sich dieser Vorgang anscheinend hauptsächlich in der Darmwand abspielt, kann er nicht direkt beobachtet werden. Wir können aber in der Mesenterialplatte zu gleicher Zeit ebenfalls eine zarte extravasculäre Fluoreszenz sehen. Es färben sich nämlich feine Bindegewebsfasern, von den Gefäßen ausgehend, mit gelblicher Fluoreszenz an, so daß sich ein zartes fluorescierenden, weitmaschiges, untereinander vielfach verknüpftes Netzwerk ausbildet.

Dieser Verlauf der intravasalen Fluorochromierung wurde bei 28 Tieren, die als Kontrollen der Versuchsanordnung dienten, in gleicher Weise beobachtet. Bei 4 Ratten erhöhten wir die Brillantsulfoflavindosis auf 3 ml/100 g Körpergewicht, die fraktioniert im Laufe von 30 min injiziert wurden, ohne daß eine Änderung des beschriebenen Fluorochromierungsverlaufes eintrat.

Während der Versuchsvorbereitungen auftretende Störungen, erschwerte Vorlagerung einer Darmschlinge, Narkoseschwierigkeiten verursachten zum Teil ein pathologisches Verhalten bei der Fluorochromie-

rung. Diese Fälle machten sich meist durch Abweichungen der Strömungsverhältnisse im Mesenterium bemerkbar. Es trat in einzelnen

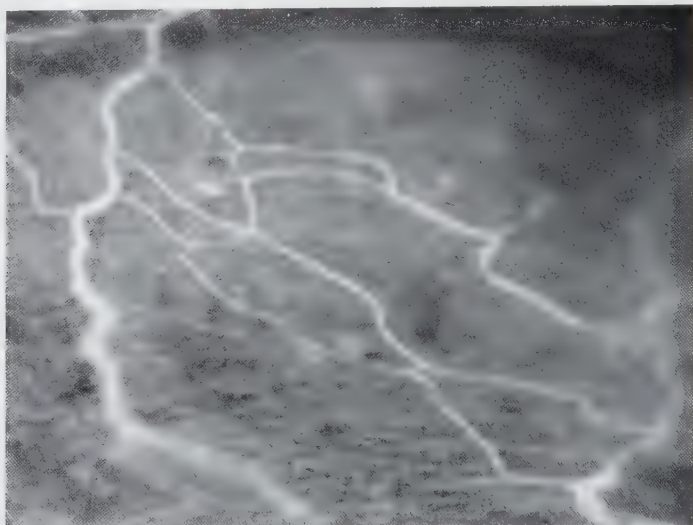


Abb. 1. Capillargebiet mit der von links oben zuführenden Arteriole, die nach unten in einen "Durchgangskanal" übergeht; rechts die abführende Venole. Normale Permeabilitätsverhältnisse. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

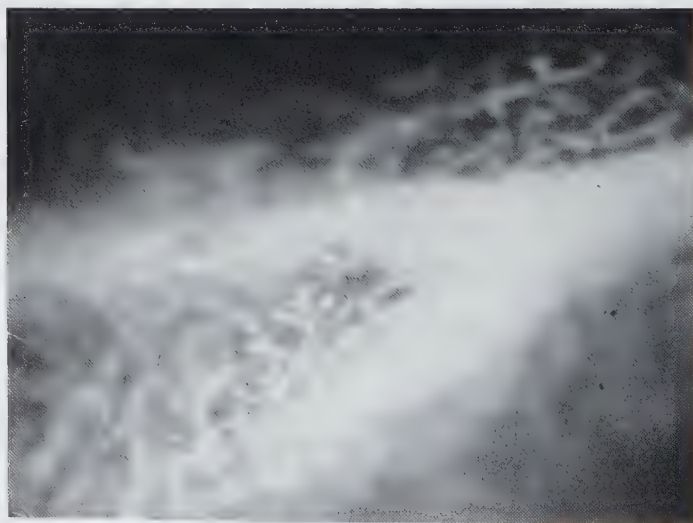


Abb. 2. Zusammenlaufende Lymphgänge im mesenterialen Fettgewebe mit fluoreszierendem Inhalt. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

Capillargebieten Strömungsverlangsamung bei erweiterten Gefäßen oder in schweren Fällen Strömungsstillstand mit den Erscheinungen der Stase

auf. Die schlecht durchströmten Gefäße ließen den Farbstoff, bevorzugt an einzelnen Gefäßabzweigungen oder Stellen stärkerer Krümmungen im Gefäßverlauf, umschrieben mehr oder weniger deutlich in den ersten

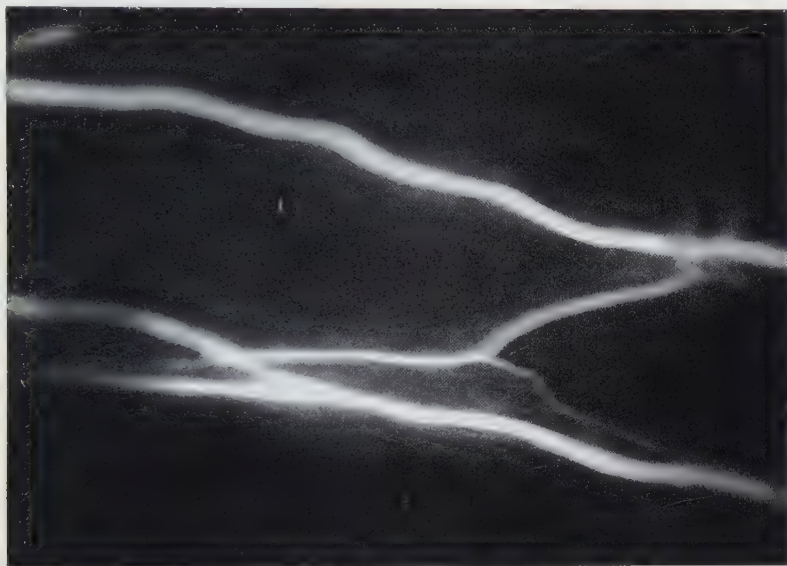


Abb. 3. Arteriolenverzweigungen mit leichten, zartfasrigen Fluoreszenzaustritten, besonders an den Verzweigungsstellen. Nach längerer Beobachtungsdauer auftretend, noch normaler Permeabilitätsbefund. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

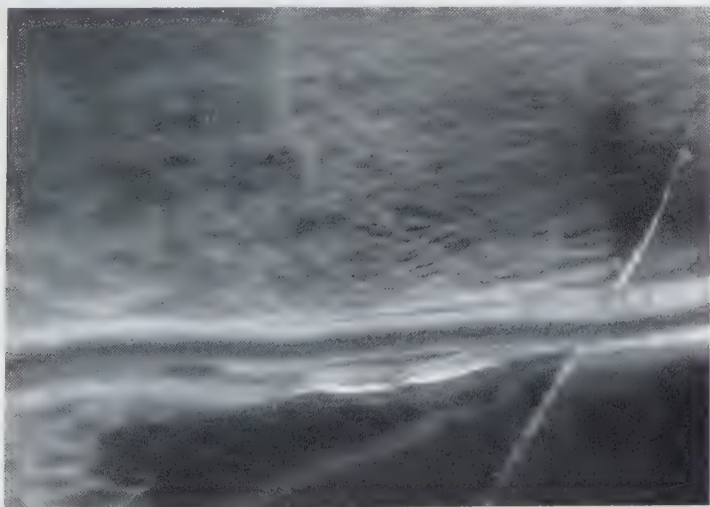


Abb. 4. Gut durchströmte Arteriole mit zentraler Erythrocytensäule und peripherem fluoreszierendem Plasmastrom. Periarterielle zartnetzige Fluoreszenzanfärbung von Bindegewebsfasern. Befund nach längerer Versuchsdauer bei normalen Permeabilitätsverhältnissen. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

Minuten nach der Injektion austreten. In leichteren Fällen kam es dann nur zu einer Verstärkung der Bindegewebsfaseranfärbung in der Nähe

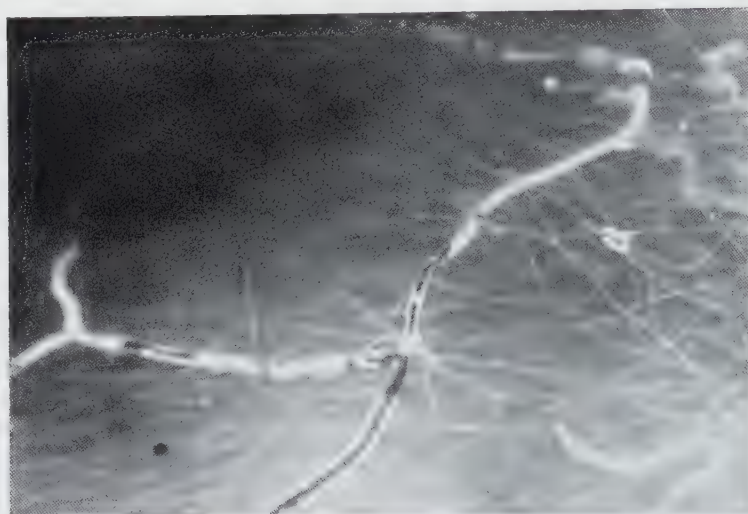


Abb. 5. Arteriole und Capillare mit körniger Strömung der Erythrocyten als Zeichen der Schädigung; von den Gefäßen ausgehende Fluoreszenzanfärbung eines Bindegewebsfasernetzes bei gesteigerter Capillarpermeabilität. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

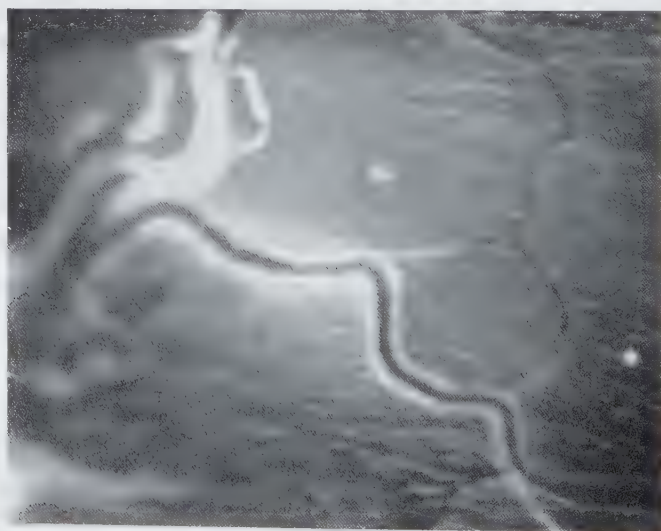


Abb. 6. Arteriole, die an umschriebener Stelle einen diffusen Fluoreszenzaustritt zeigt. Eine periarterielle Gefäßschicht auf weite Strecken fluorescierend. Gesteigerte Gefäßpermeabilität. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal

einer Arteriolengabel in einem schlechter durchströmten Gefäß. Als einen schwereren Schädigungsgrad sahen wir umschriebene kugelförmige,

wolkige Farbstoffaustritte an, auch wieder bevorzugt an Arteriolenverzweigungen bei Minderdurchblutung. Derartige Präparate mit schlechter Strömung wurden deshalb als geschädigt verworfen.

Gesteigerte Capillarpermeabilität bei Infekten

Während der Kontrolluntersuchungen an nicht vorbehandelten Tieren begegneten uns bei 9 Ratten deutliche Abweichungen von dem vorstehend beschriebenen normalen Verhalten der Gefäßpermeabilität. Autoptisch fanden sich bei allen schwere pneumonische Veränderungen. Nach der Injektion von Brillantsulfoflavin (0,8 ml/100 g Körpergewicht) erschien die Fluoreszenz meist verzögert (nach 8—9 sec) in den Mesenterialgefäßen, wahrscheinlich als Zeichen für die erschwerte Zirkulation im kleinen Kreislauf. In den folgenden Sekunden kam es dann bei meist guter Strömung im mesenterialen Gefäßgebiet zu deutlichen Austritten der Fluoreszenz aus den Gefäßen, teilweise in Form einer schnellen und starken Anfärbung von Bindegewebsfasern, zum Teil als diffus wolkige, die Gefäße in weitem Verlauf einhüllende Fluoreszenz. Besonders intensiv waren die Erscheinungen meist an den Verzweigungsstellen oder Krümmungen von Arteriolen, dehnten sich aber auch auf weite Strecken von Arteriolen, Capillaren und Venolen aus. In diesen Fällen wurde die ausgetretene Fluoreszenz auch durch die kontinuierliche Spülung der Beobachtungskammer in Wolken mit der Durchströmungsflüssigkeit davongeschwemmt. Die Lymphgefäße im Mesenterium färben sich beschleunigt, oft schon in 1—2 min intensiv an, während in den Blutgefäßen die Fluoreszenz schnell abbläßt.

Wir haben hier also das ausgeprägte Bild einer pathologisch gesteigerten Capillarpermeabilität als Modell vor uns, verursacht durch die infektiös-toxischen Einflüsse eines pneumonischen Infektes. Bei allen Versuchen wurde deshalb autoptisch auf das Vorliegen pneumonischer oder sonstiger infektiös-toxischer Veränderungen geachtet. Ein Verdacht in dieser Richtung konnte während der Versuche schon bei einer Verlängerung der Kreislaufzeit von der Schwanzvene zur Mesenterialarterie nach Injektion des Fluorochroms geäußert werden. 2 Tiere hatten eine gesteigerte Capillarpermeabilität, für die sich im Versuchsverlauf und bei der Autopsie eine sichere Ursache nicht finden ließ. Unter insgesamt 50 Kontrolluntersuchungen repräsentieren diese 2 Fälle offenbar die Fehlerbreite der Methode.

Über die Kriterien der gesteigerten Gefäßpermeabilität

In dieser Arbeit wurde ein sichtbarer Austritt von fluoreszierendem Brillantsulfoflavin aus den Mesenterialgefäßen als Zeichen einer gesteigerten Gefäßpermeabilität gewertet. An gesunden Kontrolltieren fehlten die Farbstoffaustritte. Abgesehen von lokalen Traumen erwies es sich als

schwierig, ein konstant reproduzierbares, deutlich sichtbares, starkes Aus-treten von Fluoreszenz, d. h. eine Steigerung der Capillarpermeabilität zu erzeugen. Auf die Beobachtungen an Tieren mit experimentell gesetzten Störungen der Blutgerinnung soll in einer späteren Arbeit eingegangen werden. Unsere Beobachtungen an Tieren mit spontan-pneumonischen Veränderungen zeigten, daß infektiöse Einflüsse eine Steigerung der Gefäßdurchlässigkeit herbeiführen. In diesem Sinne fanden wir in hier nicht beschriebenen Versuchen schließlich als sicherstes Mittel, eine Permeabilitätssteigerung zu produzieren, die allein auf einer Gefäßschädigung beruht, die intravenöse Injektion von Gasbrandtoxinen. Diese Fränkel-Bakterientoxine (Behring-Werke) wirken anscheinend bevorzugt capillarschädigend und verursachten immer einen starken Austritt von Fluoreszenz aus den Gefäßen.

Es erhebt sich nun die wichtige Frage, ob die bei Permeabilitätssteigerungen beobachteten Austritte nur den Farbstoff Brillantsulfoflavin betreffen oder ob noch andere Blutbestandteile daran beteiligt sind. Wie wir feststellten¹¹, ist Brillantsulfoflavin im Plasma an Eiweißkörper, vorzugsweise an Albumin und β -Globulin gebunden. Eine derartige Bindung ist nach BENNHOLD¹ als fest zu beurteilen. Läßt sich nun beweisen, daß der Fluoreszenzfarbstoff diese Bindung auch beim Verlassen des Gefäßlumens beibehält? Eine Bestimmung von Plasmaeiweißkörpern im Interstitium am lebenden mikroskopischen Objekt stößt auf methodische Schwierigkeiten. Exakt ist der Nachweis bestimmter Eiweißkörper im Gewebe nur sehr schwierig, vorzugsweise unter Anwendung immunologischer Methoden wie durch histotopographische Präcipitation markierter heterologer Eiweißantikörper, durch autoradiographische oder mikrospektro-photometrische Methoden im Schnittpräparat zu führen⁷. Da das Fluoreszenzspektrum des eiweißgebundenen Brillantsulfoflavins sich von demjenigen des freien Farbstoffs unterscheidet, weil sein Maximum etwas mehr im Grünen liegt¹¹ und wir bei mikroskopischer Beobachtung von Präparaten mit deutlich gesteigerter Gefäßpermeabilität in Bezirken mit Fluoreszenzaustritten im Pupillenspektroskop das Maximum des Fluoreszenzspektrums im Grün liegend fanden, kann man mit Vorsicht annehmen, daß Brillantsulfoflavin auch im interstitiellen Gewebe an Eiweiß gebunden vorliegt. Das sagt aber noch nichts darüber aus, ob es sich hierbei um dieselbe Eiweißbindung wie intravasal handelt oder ob der Farbstoff, nachdem er während des Durchtretens durch die Capillarwand seine Bindung an die Plasmaproteine verloren hat, sie erst wieder jenseits der Gefäßwand, sei es mit ausgetretenen Plasmaproteinen oder mit ortsständigem interstitiellen Eiweiß eingeht. BENNHOLD^{2, 6} nimmt an, daß die farbstoffbindenden Serumeiweißstoffe als „Vehikel“ die Farbstoffe durch die Zellmembranen hindurchschleppen und diese Bindung nur an den Orten des Verbrauchs beziehungsweise der Ausscheidung

gelöst wird. Auch BARTELHEIMER⁸ fand in Versuchen mit Farbstoffen, die an radioaktiv markiertes Albumin gebunden waren, daß der Farbstoff in seiner Albuminbindung zusammen mit dem markierten Eiweiß aus den Gefäßen austritt. Danach müßte man annehmen, daß unsere Beobachtungen bei gesteigerter Capillarpermeabilität auch einen Austritt von Plasmaeiweißkörpern beweisen.

Als bevorzugten Ort der Permeabilitätssteigerung fanden wir Verzweigungen und geschlängelt oder bogig verlaufende Gefäßstellen, an denen oft zuerst oder ausschließlich Fluoreszenzaustritte vorkommen. Das deutet auf mechanische Einwirkungen hin, da man sich vorstellen kann, daß der Blutstrom an Biegungen einen vermehrten hydrostatischen Druck ausübt, der zum Austritt von Blutflüssigkeit durch eine pathologisch veränderte Capillarwand führen kann¹⁰. Gefäßverzweigungen und Biegungen sind auch der bevorzugte Ort von Leukocytendiapedese und dem Auftreten von kugelförmigen Petechien bei Purpuraformen^{3-5, 9}. Die arterielle und venöse Seite der terminalen Strombahn kann gleicherweise von Fluoreszenzaustritten betroffen sein, doch scheinen Arteriolen und Metarteriolen bevorzugt zu werden. Daneben gibt es Farbaustritte, die entlang weiter Strecken von Gefäßen mehr oder weniger gleichmäßig auftreten, wobei sich die Austritte nicht auf die echten Capillaren beschränken, sondern sich auch bis auf kleine Arteriolen und Venolen erstrecken. Die a-v-Kanäle oder Metarteriolen mit ihrer bevorzugten Strömung und schon normalerweise auswärts gerichteten Filtration spielen bei diffus gesteigerten Permeabilitätsverhältnissen eine hervorragende Rolle.

Die Ausbreitung der Fluoreszenz im Interstitium erfolgt, wie wir zeigen konnten, auf 2 Arten: diffus in Form von Farbwolken mit flächenhafter Anfärbung des Bindegewebes oder feinfasrig mit Entstehen einer netzartigen Zeichnung durch Anfärbung von Bindegewebsfasern. Die wolkigen Austritte können auch als Farbschwaden in die Spülflüssigkeit der Beobachtungskammer übertreten. Diese Form der Gefäßdurchlässigkeitssteigerung ist sicher als besonders schwer anzusehen. Die feinfasrigen, besenreiserartigen Farbaustritte repräsentieren dagegen einen weniger schweren Grad der Permeabilitätsstörung. Die Bilder erinnern an das Zerfließen eines Tintenstrichs in Löschpapier. Sie unterstützen die Vorstellungen von einer Stoff- und Flüssigkeitsausbreitung im Interstitium entlang den Bindegewebsfasern. Daß diese Faseranfärbung nicht auf einer besonderen färberischen Affinität der Fasern zum Brillantsulfoflavin beruht, beweisen Beobachtungen, bei denen trotz eines Farbstoffgehaltes der Spülflüssigkeit in der Zellophankammer eine Anfärbung von Bindegewebsstrukturen ausblieb. Wir können also annehmen, daß diese Faserdarstellung eine Form des Stofftransports durch das Interstitium widerspiegelt und mit den Erscheinungen der Capillarpermeabilität ursächlich zusammenhängt.

Nachdem der Farbstoff ins interstitielle Gewebe übergetreten ist, beginnt er auch in den Lymphwegen zu erscheinen. Schon im Kontrollpräparat gesunder Tiere füllen sich die Lymphcapillaren nach 5 min und später mehr oder weniger mit Fluoreszenz. Auch in diesen Fällen ist es also zu einem Austritt von Farbstoff aus den Blutgefäßen gekommen, der entweder so schwach ist, daß er im Fluoreszenzmikroskop nicht beobachtet werden kann oder Gefäßgebiete betrifft, die nicht im Gesichtsfeld liegen, zum Beispiel sich in der Darmwand abspielen kann. Da sich auch in diesen Präparaten nach längerem Zuwarten ein feines Bindegewebsfasernetz ausbilden kann, möchten wir annehmen, daß ein geringer, den Fasern folgender Stofftransport auch in diesen Fällen stattfindet. Er repräsentiert wahrscheinlich die normalen Transport- und Austauschvorgänge zwischen Blut und Gewebe, die bei den leichteren Störungen der Gefäßdurchlässigkeit nur graduell gesteigert und deshalb deutlicher sichtbar ablaufen. Die Bindungsfestigkeit zwischen Farbstoff und Plasmaeiweiß vorausgesetzt, beweisen die Beobachtungen einen gewissen Eiweißaustausch zwischen Gefäßen, Interstitium und Lymphwegen auch unter den Kontrollbedingungen des Experimentes.

Zusammenfassung

Die Erscheinungen der Capillarpermeabilität wurden an den Gefäßen des Rattenmesenteriums nach Fluorochromierung mit Brillantsulfoflavin studiert. Bei gesunden Tieren beobachtete man, daß der Fluoreszenzfarbstoff nach intravenöser Injektion die Gefäße nicht sichtbar verläßt. Nach 5—10 min beginnt die Fluoreszenz in den Lymphwegen zu erscheinen, während zu gleicher Zeit eine feine, von den Blutgefäßen ausgehende Anfärbung netzartig angeordneter Bindegewebsfasern auftritt. Dieses Verhalten wurde als Ausdruck der normalen Gefäßpermeabilität gewertet.

Eine gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit geht mit einem schnelleren und verstärkten Fluoreszenzaustritt aus den Gefäßen einher, wobei man 2 Arten der Permeabilitätssteigerung unterscheiden kann: Es fand sich frühzeitig eine feinfasrige perivaskuläre Ausbreitung des Farbstoffs, die mit einer schnellen Ausbildung des fluoreszierenden bindegewebigen Netzwerkes einhergeht. In anderen Fällen entstanden umschriebene oder diffuse wolkige Farbstoffaustritte. Beide Formen der sichtbaren Permeabilitätssteigerung gehen mit einem schnellen Auftreten der Fluoreszenz in den mesenterialen Lymphwegen einher. Die Fluoreszenzaustritte bevorzugen geschlängelt verlaufende Gefäßstrecken und Gefäßverzweigungen, besonders am arteriellen Teil der terminalen Strombahn, kommen aber auch an allen Abschnitten, von kleinen Arteriolen bis zu Venolen vor. Eine gesteigerte Gefäßpermeabilität der beschriebenen Art fand sich bei Tieren mit spontan-pneumonischen Veränderungen, ferner nach lokalen Traumen.

Literatur

- ¹ BENNHOLD, H., H. OTT u. M. WICH: Dtsch. med. Wschr. **1950**, 11. — ² BENNHOLD, H.: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. Wiesbaden 1953. — ³ FULTON, G. P., R. P. AKERS and B. R. LUTZ: Blood **8**, 140 (1953). — ⁴ GROS, F., u. H. HAEFELI: Internat. Angiol. Kongr. Fribourg 1955. — ⁵ HUMBLE, J. G.: Blood **4**, 69 (1949). — ⁶ KALLEE, E., F. LOSS u. G. SEYBOLD: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. München 1954. — ⁷ MELLORS, R. C.: Analytical Cytology. New York-Toronto-London: McGraw-Hill 1955. — ⁸ SCHWARTZKOPFF, W., u. H. BARTELHEIMER: Z. exper. Med. **125**, 409 (1955). — ⁹ SPAET, TH. H.: Amer. J. Physiol. **170**, 333 (1952). — ¹⁰ STURM, H.: Pflügers Arch. **249**, 480 (1947). — ¹¹ WITTE, S.: Z. exper. Med. **129**, 181 (1957). — ¹² ZWEIFACH, B. W., and D. B. METZ: Angiology **6**, 282 (1955).

Privatdozent Dr. SIEGFRIED WITTE, Erlangen, Krankenhausstraße 12,
Medizinische Universitätsklinik

Druck von J. P. Peter, Gebr. Holstein, Rothenburg o. d. Tbr.

THROMBOSIS ET DIATHESIS HAEMORRHAGICA

EDITORES: F. BÜCHNER, FREIBURG/BREISGAU; E. DEUTSCH, WIEN; J. E. JORPES, STOCKHOLM; J. JÜRGENS, BASEL; F. KOLLER, ZÜRICH; K. ROHR, ZÜRICH; J. ROSKAM, LIEGE; I. S. WRIGHT, NEW YORK

. II

1. V. 1958

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Die Steigerung der Kapillarpermeabilität durch Blutgerinnungsstörungen

Siegfried Witte



FRIEDRICH-KARL SCHATTAUER-VERLAG · STUTTGART

In früheren Arbeiten (1, 2) wurde eine Methode zur mikroskopischen Untersuchung der Kapillarpermeabilität in vivo entwickelt. Dabei färbte man an der Ratte durch intravenöse Injektion eines nicht toxischen Fluoreszenzfarbstoffes (Brillantsulfoflavin) die Plasmaproteine, vorwiegend Albumin und β -Globulin an. Beobachtet man das Gefäßnetz einer Darmschlinge, die in einer kontinuierlich durchspülten Zellophankammer vorgelagert ist, im Fluoreszenzmikroskop bei Blauviolettleuchtung, so sieht man die Blutgefäße durch ihren fluoreszierenden Plasmahalt hellgelb aufleuchten. Eine gesteigerte Gefäßpermeabilität erkennt man an dem mehr oder weniger schnellen und verschieden starken Austreten der Fluoreszenz aus den Blutgefäßen in das perivaskuläre Bindegewebe und an dem beschleunigten Übertritt in die Lymphwege. Die genauen mikroskopischen Kriterien der normalen und gesteigerten Kapillarpermeabilität wurden an anderer Stelle dargestellt (2, 3).

Mit dieser Methode läßt sich nun das Verhalten der Kapillarpermeabilität unter verschiedenen krankhaften Bedingungen studieren. Da das Blutgerinnungssystem in engen Beziehungen zu den Blutgefäßen steht, das Blutorgan bei Gefäßverletzungen vor einem Verlust nach außen schützt und durch veränderte Oberflächenbeschaffenheit der Gefäßwände aktiviert werden kann, stellte sich die Frage, ob die Blutgerinnung auch an den Vorgängen der Kapillarpermeabilität beteiligt ist. Diese Frage wurde zum Anlaß der folgenden Untersuchungen. Im einzelnen sollten untersucht werden: 1. die Thrombozyten, 2. die humoralen Gerinnungsfaktoren und 3. kombinierte Gerinnungsstörungen in ihrer Wirkung auf die Kapillarpermeabilität.

Bezüglich der Methodik der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung am Rattenmesenterium und der Beobachtungen an normalen Tieren wird auf frühere Arbeiten (1, 2) verwiesen.

Die Kapillarpermeabilität bei der durch Antithrombozytenserum hervorgerufenen thrombozytopenischen Purpura

Wenn man Kaninchen gegen die Thrombozyten der Ratte sensibilisiert, so kann man ein Antithrombozytenserum gewinnen, das bei Ratten eine akute thrombozytopenische Purpura hervorruft. Nachdem in der Pathogenese mancher menschlicher Thrombopenie-Formen gegen Thrombozyten gerichtete Antikörper eine wichtige Rolle spielen können, hat dieses Tiermodell einer solchen hämorrhagischen Diathese an allgemeiner Bedeutung gewonnen.

Methodik. Es werden die Thrombozyten aus Rattenoxalatplasma durch fraktioniertes Zentrifugieren isoliert und mehrmals gewaschen. Zum Sensibilisieren eines Kaninchens benötigt man die Thrombozyten aus ungefähr 45 ml Rattenplasma. Sie werden nach der Reinigung in dem halben Ausgangsvolumen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit der gleichen Menge eines frisch bereiteten, Ammoniak-frei gewaschenen Aluminiumhydroxyd-Gels adsorbiert. Alle Arbeitsgänge gehen unter sterilen Kautelen vor sich. Das Kaninchen wird dann mit dem Aluminiumhydroxyd-Antigen an 3 Tagen hintereinander durch Setzen mehrerer intramuskulärer Depots sensibilisiert. 14 Tage nach der ersten Antigeninjektion wird das Kaninchen entblutet. Das so gewonnene Kaninchenantiserum enthält gegen Rattenthrombozyten gerichtete agglutinierende Antikörper mit einem Titer von 1 : 500 bis 1 : 1000. Injiziert man dieses Serum Ratten, so entwickelt sich eine akute hämorrhagische Diathese, die in 1 bis 3 Tagen zum Tode durch Verbluten führen oder nach 8 bis 10 Tagen in klinische Heilung ausgehen kann. Die Blutungskrankheit beruht auf einer schweren akuten Thrombozytopenie, die durch intravasale Agglutination der Thrombozyten und durch eine Hemmung der Thrombozytopoese mit degenerativen und aplastischen Veränderungen an den Megakaryozyten im Knochenmark zustandekommt (4 bis 6).

An 15 Tieren wurde das Verhalten der Kapillarpermeabilität während der akuten thrombozytopenischen Phase untersucht. Die Antiserumdosis betrug 0,8 ml/100 g Körpergewicht intravenös. Der Fluoreszenzfarbstoff Brillantsulfosflavin wurde in einer Menge von 0,4 bis 1,0 ml/100 g 5 Minuten bis 3 Tage nach der Antiserumgabe verabreicht. Die Thrombozyten wurden am Ende des Versuchs in der Zählkammer nach Feissly-Lüdin (7) gezählt. Gesunde Ratten haben Thrombozytenzahlen um 600 000/mm³.

Ergebnisse

Die Antiplättchenserum-Injektion bewirkt eine sofortige Agglutination der Thrombozyten im strömenden Blut, die man in kleinen Zöpfen die Mesenterialkapillaren 2 bis 5 Minuten nach der Injektion passieren sieht. Diese Agglutinate werden wahrscheinlich in der Lunge abgefangen, so daß man einige Minuten später kaum noch Thrombozyten in der Peripherie findet.

Bei 9 Tieren untersuchten wir das Verhalten der Permeabilität in der ersten halben Stunde nach der Antiseruminjektion, als die Thrombozyten im Durchschnitt auf 57 000, also auf $\frac{1}{10}$ der Norm abgesunken waren. 7 Fälle wiesen eine gesteigerte Kapillarpermeabilität auf, die sich 6mal durch kugelförmige Austritte der Fluoreszenz an Abzweigungen, Biegungen oder im ganzen Verlauf von Arteriolen, Kapillaren und Venolen manifestierte. In einem Fall kam es nur zu einer verzögert auftretenden, aber deutlich verstärkten Anfärbung der perivasalen Bindegewebsfasern. Die kugelförmigen Farbstoffaustritte waren zum Teil gefolgt von kugelförmigen Blutextravasaten, wie sie für die thrombozytopenische Purpura typisch sind. Bei ihnen handelt es sich um plötzliche, meist an Arteriolen aufschießende Erythrozytenaustritte, während die Blutströmung in den betroffenen Gefäßen unverändert weitergeht. 2 Tiere hatten trotz stark erniedrigter Plättchenzahlen eine normale Kapillarpermeabilität. Hier ist die Beobachtung besonders auffallend, daß trotz sichtbarer Purpura-Blutungen isolierte Farbstoffaustritte eindeutig fehlten. Hieraus geht eine Dissoziation von Kapillarpermeabilität und Kapillarfragilität hervor.

1 bis 3 Tage nach der Antiserumgabe ging die gesteigerte Kapillarpermeabilität allmählich zurück, während die Thrombozyten noch deutlich vermindert waren und bei den Operationen die Zeichen einer gesteigerten Blutungsneigung bestanden.

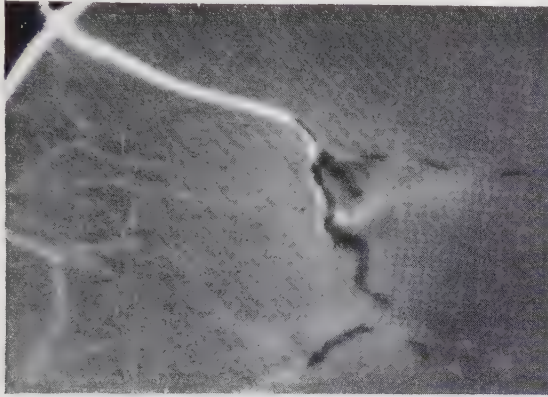


Abb. 1: Austritt von fluoreszierendem Plasma und Erythrozyten an einer Gefäßgabel. Akute Thrombozytopenie nach Antithrombozytenserum. Rattenmesenterium mit Fluorochromierung der Plasmaproteine. Fluoreszenzbeobachtung, 80mal.

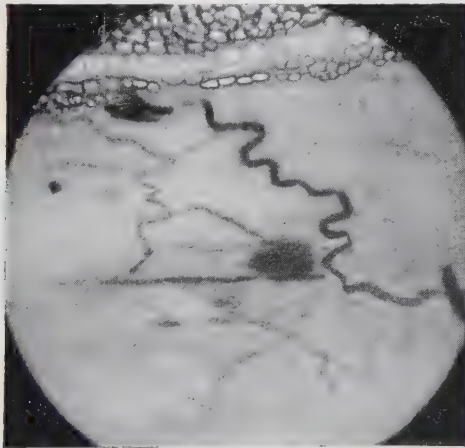


Abb. 2: Kugelförmige Blutungen bei akuter Thrombozytopenie nach Antithrombozytenserum. Kapillargebiet am Rande des mesenterialen Fettgewebes der Ratte. Hellfeld, 40mal.

Zusammenfassung. (Tabelle 1). Kurz nach der Injektion von Antiratten-thrombozytenserum kam es zu einem akuten Absinken der Blutplättchen auf $\frac{1}{10}$ der Norm mit Blutungsneigung. Zugleich trat bei 7 von 9 Tieren eine gesteigerte Kapillarpermeabilität auf, die sich in wolkigen, meist umschriebenen oder diffusen Farbstoffaustritten manifestierte. Gesteigerte Kapillarfragilität

und -permeabilität gingen nicht immer miteinander parallel. In den folgenden 3 Tagen bildete sich die Permeabilitätsstörung zurück.

Zahl der Fälle	Zeit nach Antiserum- gabe	Thrombo- zyten	Kapillarpermeabilität			Blutungen
			deutlich	gering	normal	
			gesteigert			
9	5 bis 30 Min.	57 000	5	2	2	5
2	24 Std.	109 000	—	2	—	2
2	48 Std.	81 000	1	1	—	2
2	72 Std.	78 000	—	1	1	1

Tab. 1 : Zusammenfassung der Ergebnisse bei akuter thrombozytopenischer Purpura

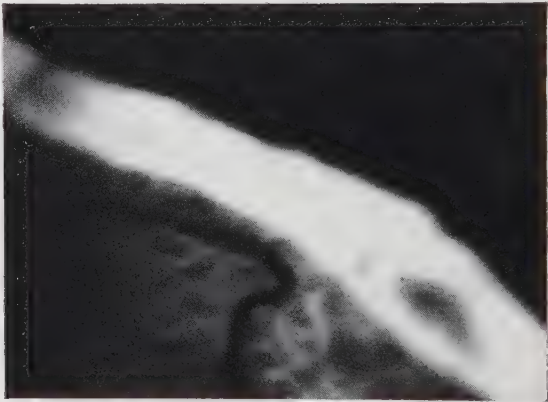


Abb. 3 : Lymphgang mit fluoreszierendem Inhalt. Die dunklen Inseln in ihm bestehen aus Fluoreszenzlöschenden Erythrozyten, die nach Blutungen im Mesenterium durch die Lymphwege abtransportiert werden. Akute thrombozytopenische Purpura nach Antithrombozytenserum. Fluorodromierung der Plasmaproteine. Rattmesenterium, Fluoreszenzbeobachtung, 80mal.

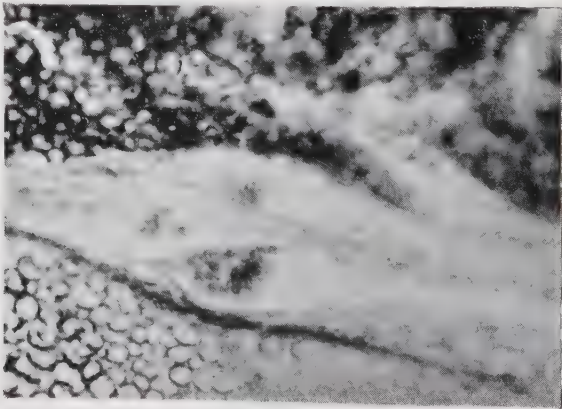


Abb. 4 : Lymphgang im Mesenterialfettgewebe mit Lymphgangklappe und erythrozytenhaltigem Inhalt. Die Erythrozyten werden nach Blutungen durch die Lymphwege resorbiert, durch die Peristaltik der Lymphgefäße vorwärts getrieben, wobei sich zentralwärts von den Klappen Wirbel bilden, in denen Erythrozyten liegen bleiben können. Akute thrombozytopenische Purpura nach Antithrombozytenserum. Hellfeld, 80mal.

Die Kapillarpermeabilität bei der durch Antigefäßserum hervorgerufenen Blutungskrankheit

Neben der durch Antiplättchenserum verursachten Purpura gelingt es auch, mit einem Antiserum, das durch Sensibilisierung gegen Gefäßwand (Endothel) gewonnen wurde, eine Blutungskrankheit zu erzeugen, deren klinische Symptome der thrombozytopenischen Purpura ähneln, ohne daß es jedoch zu einer ausgeprägten Thrombozytopenie kommt (8). Man zog deshalb pathogenetische Vergleiche von dieser experimentellen hämorrhagischen Diathese zu klinischen Purpura-Formen wie dem M. Schönlein-Henoch, bei denen in Einzelfällen auch gegen ein Antigen aus Gefäßwand gerichtete Antikörper nachgewiesen wurden (9).

Methodik. Wir erzeugten diese experimentelle Blutungskrankheit, die bisher nur am Hund untersucht wurde, erstmals auch an der Ratte. Dazu wurde ein Antigen aus der Wand der Rattenaorta hergestellt, indem die Brust- und Bauchorta freipräpariert, herausgenommen und gewaschen wurde, dann mit gleichen Teilen Sand und physiologischer Kochsalzlösung verrieben, abzentrifugiert und der Überstand mit gleichen Teilen eines frisch bereiteten Aluminiumhydroxyd-Gels zur Adsorption geschüttelt als Antigen Kaninchen intramuskulär injiziert wurde. 1 Tier erhielt an 3 Tagen hintereinander je 5mal 2 ml Antigenaufschwemmung von insgesamt 15 Rattenaorten. 14 Tage nach der ersten Antigeninjektion wurde das Tier zur Gewinnung des Serums entblutet.

Ergebnisse

Dieses Antiserum erhielten 10 Ratten intravenös injiziert. 5 Tiere, bei denen im Anschluß an die Antiserumgabe die Kapillarpermeabilität untersucht wurde, wiesen eine mäßig gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit auf. Man beobachtete meist schwache Farbstoffaustritte vom Typ der netzartigen Anfärbung perivasaler Bindegewebsfasern an allen Arten von Blutgefäßen, von Arteriolen über Kapillaren bis zu kleinen Venen. Kugelförmige wolkige Farbastritte waren nur vereinzelt zu sehen. Zu diesem Zeitpunkt waren die Thrombozyten bis auf durchschnittlich 100 000 Zellen abgesunken.

24 Stunden später zeigten die Blutplättchen wieder einen Anstieg, während die Permeabilitätsverhältnisse sich noch als deutlich gestört erwiesen. In 3 Fällen hatte sich eine manifeste hämorrhagische Diathese entwickelt. Diese Befunde unterscheiden sich von der Gruppe thrombozytopenisch bedingter Störungen. Während dort die Blutungsneigung und die stärksten Veränderungen der Gefäßpermeabilität sofort nach der Antiserumzufuhr auftraten, entwickelten sich beide Arten von Gefäßstörungen hier erst im Verlauf von 24 Stunden, während die Thrombozytopenie, die bei den mit Antiplättchenserum injizierten Fällen über mehrere Tage anhielt, hier schon nach einem Tag ein ansteigende Tendenz aufwies.

Zusammenfassung. Durch Injektion eines Antigefäßserums, das nach Injektion eines Antigens aus Rattenaorta vom Kaninchen gewonnen wurde, gelang es

bei der Ratte, eine Blutungskrankheit hervorzurufen, die bei nur passagerer mäßiggradiger Verminderung der Thrombozyten als vorwiegend gefäßbedingt aufzufassen ist. Gleichzeitig entwickelte sich eine Steigerung der Gefäßpermeabilität (Tab. 2), die sofort nach der Antiserumgabe schwach, 24 Stunden später deutlicher ausgeprägt war. Dabei handelte es sich vorwiegend um den Typ der Permeabilitätssteigerung, der zu einer Anfärbung netzartiger perivaskulärer Bindegewebsfasern führt.

Zahl der Fälle	Zeit nach Antiserum- gabe	Thrombo- zyten	Kapillarpermeabilität			Blutungen
			deutlich	gering	normal	
			gesteigert			
5	10 Min.	102 200	—	5	—	—
5	24 Std.	228 800	3	1	1	4

Tab. 2 : Ergebnisse bei der akuten, durch Antigefäßserum bedingten Blutungskrankheit

Die Kapillarpermeabilität bei der Gerinnungsstörung nach Trypsininfusion

Trypsin beeinflusst den Blutgerinnungsvorgang in mehrfacher Weise im Sinne einer Beschleunigung. Es kann die Prothrombinumwandlung durch Angreifen am Prothrombin selbst auslösen und durch Labilisierung oder Freisetzung anderer Gerinnungsfaktoren beschleunigen (10, 11). Die Gerinnungsbeschleunigung kommt zumindest teilweise durch einen schnelleren Zerfall der Thrombozyten zustande. Neben diesen spezifischen Gerinnungswirkungen besitzt das Trypsin wegen seiner proteolytischen Eigenschaften durch Zerstörung einzelner Gerinnungsfaktoren eine unspezifische gerinnungshemmende Wirkung, die sich besonders in einer Fibrinogen-Hydrolyse bemerkbar machen kann (12, 13). Diese Eigenschaften hat man schon therapeutisch zur Behandlung von Thromboembolien nutzbar zu machen versucht (14). Auch das Prothrombin kann nach Trypsininfusionen stark abfallen (15).

Methodik. Wegen seiner mehrfachen Angriffspunkte im Blutgerinnungssystem schien uns das Trypsin zur orientierenden Prüfung von Zusammenhängen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität geeignet. Wir verwendeten Trypsin. puriss. Merck, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, wobei in 5 Versuchen die milchig-trübe, unfiltrierte 5%ige Suspension injiziert wurde, während bei 6 Versuchen die Aufschwemmung durch Filtrieren geklärt wurde. 0,8 ml/100 g Körpergewicht der Trypsinlösung wurden in 5 bis 10 Min. langsam intravenös injiziert, dann das Mesenterialpräparat vorbereitet und 15 bis 20 Min. später Brillantsulfoflavin (0,1%) injiziert. Nach den Versuchen bestimmten wir die Thrombozytenzahlen und gewannen durch Herzpunktion Oxalatblut zur Blutgerinnungsbestimmung.

Im Oxalatplasma wurden folgende Faktoren nach selbst modifizierten, bereits beschriebenen Methoden (16) untersucht: die Prothrombinzeit nach Quick, Faktor VII nach Koller-Owren, Prothrombin nach Koller-Owren, Faktor V nach Quick-Stefanini. Faktor V bestimmten wir wegen seiner schnellen Alterung in vitro nur, wenn das Rattenplasma frisch am Tage der Blutabnahme untersucht werden konnte, während Faktor VII und Pro-

thrombin auch an bei -20°C aufbewahrten Plasmaproben bestimmt werden konnte. Über die Normalwerte der Gerinnungsfaktoren bei der Ratte hatten wir schon früher Untersuchungen angestellt (16).

Ergebnisse

Wie von den in-vitro-Versuchen (10) zu erwarten gewesen war, verursachte Trypsin intravenös eine akute Blutgerinnungsstörung, die durch eine sofort einsetzende Verminderung von Prothrombin, Faktor V und VII zustandekam. Diese Faktoren sanken bis auf unter 50% ab. Die Prothrombinzeit nach *Quick* verlängerte sich parallel zur Verminderung der Einzelfaktoren, deren Resultante sie widerspiegelt. Da einige Male im *Quick*-Test das entstandene Fibringerinnsel sehr zart war, kann man auch eine deutliche Verminderung von Fibrinogen annehmen. Wir haben also eine komplexe Gerinnungsstörung vor uns, die nach den Erfahrungen der menschlichen Pathologie als besonders schwer zu werten ist. Sie ähnelt der bei schweren Leberparenchymschäden anzutreffenden pathologischen Gerinnungskonstellation (17). Neben den humoralen Gerinnungsfaktoren beeinflusste das Trypsin auch die Thrombozyten, die es zum Teil zerstörte, so daß eine mäßiggradige Thrombozytopenie entstand. Dabei fiel auf, daß der Plättchenmangel nach Injektion der unfiltrierten Trypsinaufschwemmung wesentlich stärker war. Das läßt sich durch die Neigung der Thrombozyten zur Oponisation von Fremdpartikeln in der Blutbahn erklären, die den Blutplättchen in besonderem Maße eigen ist (18, 19). Die Thrombozyten haften an den ungelösten Trypsinpartikeln, agglutinieren an ihnen und werden dann mit ihnen in der Lunge abgefangen. Ein weiterer Unterschied im Gerinnungsstatus zwischen den mit unfiltrierter und filtrierter Trypsinlösung behandelten Tieren fand sich im Verhalten der humoralen Gerinnungsfaktoren, was besonders im *Quick*-Test zum Ausdruck kam, der nach Injektion der filtrierten Trypsinlösung stärker abgesunken war. Eine Erklärung hierfür steht noch aus.

Die Kapillarpermeabilität wurde bei dieser durch Trypsin hervorgerufenen komplexen Störung des Gerinnungssystems meist gesteigert gefunden. Sie war in den Fällen mit ausgeprägter Thrombozytopenie nach Anwendung der unfiltrierten Lösung stärker pathologisch verändert. Die beobachteten Austritte der Fluoreszenz gingen meist in Form diffuser Farbstoffwolken vor sich, die wieder die Abgangsstellen von Gefäßen und die arterielle Seite des Endstrombahngebietes bevorzugten.

Zusammenfassung. (Tabelle 3). Nach intravenöser Injektion von Trypsin bildete sich innerhalb von 5 bis 15 Min. eine schwere Gerinnungsstörung aus mit Thrombozytopenie, Verminderung von Prothrombin, Faktor V, Faktor VII und Fibrinogen. Eine Trypsinlösung, die noch ungelöste Partikel enthielt, verursachte eine besonders starke Thrombozytopenie mit Werten unter 10% der Norm, während nach Injektion der filtrierten Trypsinlösung das Absinken der

humoralen Gerinnungsfaktoren, zum Teil bis unter 10% der Norm im Vordergrund stand. In 10 von 11 Fällen fand sich eine gesteigerte Kapillarpermeabilität mit diffusen Fluoreszenzaustritten aus den Gefäßen.

Zahl der Fälle	Trypsin	Thrombo- zyten	Quicktest %	Faktor VII %	Pro- thrombin %	Faktor V %	Kapillarpermeabilität		
							deutlich	gering	normal
							gesteigert		
5	unfiltriert	47 200 (5)	40,2 (5)	32,5 (5)	25,0 (5)	24,5 (6)	3	1	1
6	filtriert	140 140 (6)	13,7 (6)	26,0 (6)	19,3 (4)	4,5 (4)	2	4	—

T a b . 3 : Die Durchschnittswerte der Untersuchungen nach Trypsininjektion

Die Kapillarpermeabilität bei der durch Thrombininfusion verursachten Blutgerinnungsstörung

Nach intravenöser Injektion des aktiven Thrombinfermentes kann man zwei entgegengesetzte Phänomene beobachten. Bei schneller Injektion hochaktiver Präparate kommt es zu einer tödlichen intravasalen Gerinnung mit Gerinnseln besonders im rechten Herzen und in den Lungenarterien. Wenn die Injektion langsam erfolgt, so beobachtet man eine zunehmende Gerinnungsverzögerung und schließlich eine völlige Ungerinnbarkeit des Blutes. Sie kommt durch eine totale Afibrinogenämie — eine intravasale Defibrinierung — zustande (20, 21). Neben dem Fibrinogenmangel entstehen noch weitere Gerinnungsstörungen: eine vorübergehende Thrombozytopenie, eine Verminderung von Prothrombin und Faktor V, eine Verminderung von Fibrinolysin (20). Auch kann sich ein Schockzustand entwickeln, der besonders nach Thrombinreinfusionen im Zustand der Ungerinnbarkeit tödlich verläuft (20, 22).

Methodik. Wir verwendeten das Thrombinpräparat Topostasin (Roche), in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, und stellten die Aktivität der zu jedem Versuch frisch bereiteten Lösung so ein, daß 0,1 ml Thrombinlösung mit 0,2 ml einer Standardfibrinogenlösung (Fibrinogen- Behring 0,6%ig in Kochsalzlösung und Veronalpuffer pH 6,7 gelöst) eine Gerinnungszeit von 6 bis 7 Sek. bei 37° C ergab. Eine wesentlich aktiviere Thrombinlösung ließ sich nicht verwenden, weil dann selbst bei langsamster Infusion tödliche Lungenembolien auftraten. Die Thrombinlösung wurde intravenös injiziert, durchschnittlich 0,1 ml/Min.

Ergebnisse

Im ersten Teil der Versuchsgruppe injizierten wir bei 11 Tieren das Thrombin, während das Tier unter dem Mikroskop lag und nachdem es 1 Min. vorher eine Injektion Brillantsulfoflavin erhalten hatte. In 5 Versuchen kam es nach Beendigung der Thrombininfusion zu tödlichen Lungenembolien. Wahrscheinlich

war in diesen Versuchen die Injektionsgeschwindigkeit zu groß gewesen. In allen untersuchten Fällen hatte die Thrombininfusion eine deutliche Störung der Blutgerinnung hervorgerufen. Wir fanden eine ausgeprägte Thrombozytopenie mit Werten unter $100\,000/\text{mm}^3$, eine mäßige Verlängerung der Prothrombinzeit nach Quick bis auf etwa die Hälfte der Norm, eine deutliche Verminderung von Prothrombin und Faktor VII auf durchschnittlich 21 bis 23% mit geringerer Abnahme von Faktor V. Es war also bereits 10 bis 15 Min. nach Thrombingabe eine schwere Gerinnungsstörung im Sinne einer verminderten Gerinnbarkeit entstanden, die sowohl die Thrombozyten als auch die humoralen Gerinnungsfaktoren betraf. Die Kapillarpermeabilität erwies sich trotzdem in dieser Gruppe als nicht gestört. Der kurz vor der Thrombininfusion injizierte Farbstoff, der zu einer deutlichen Darstellung der mesenterialen Gefäße geführt hatte, änderte sein Verhalten während und 5 bis 10 Min. nach Abschluß der Thrombininfusion nicht und trat nicht sichtbar aus den Blutgefäßen aus.

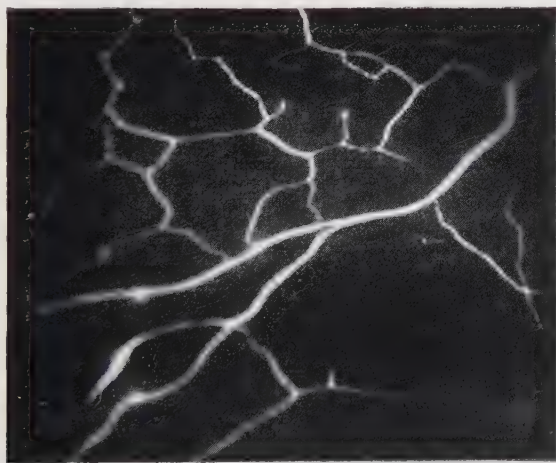


Abb. 5 : Kapillarnetz im Rattenmesenterium. In der Bildmitte eine Arteriolen-gabel. Normale Permeabilität, Fluorochromierung der Plasmaproteine. Fluoreszenzbeobachtung, 50mal.

In der 2. Gruppe erhielten 13 Tiere die Thrombininfusion 45 Min., 2 Tiere 90 Min. vor der mikroskopischen Untersuchung und der Farbstoffgabe. Zu dieser Zeit waren die Blutplättchen wieder auf durchschnittlich die Hälfte der Norm angestiegen. Dagegen bestand die Koagulopathie noch in unveränderter Stärke. Das Prothrombin zeigte sogar im Durchschnitt noch eine stärkere Verminderung als sofort nach der Thrombininfusion. Wurde nun in diesem Stadium die Kapillarpermeabilität geprüft, so zeigten 8 von 15 Tieren sofort nach der Fluorochromierung ein diffuses Austreten der Fluoreszenz aus den Gefäßen und zwei weitere Tiere ein Austreten des Farbstoffes einige

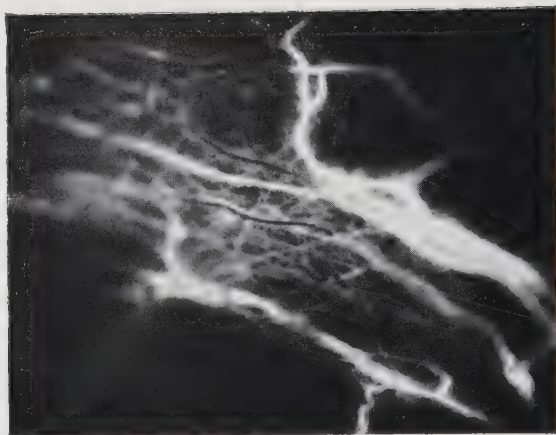


Abb. 6: Gesteigerte Kapillarpermeabilität mit netzförmiger Anfärbung perivasaler Bindegewebsfasern. Gerinnungsstörung nach Thrombininfusion, Fluorochromierung der Plasmaproteine. Fluoreszenzbeobachtung, 50mal.

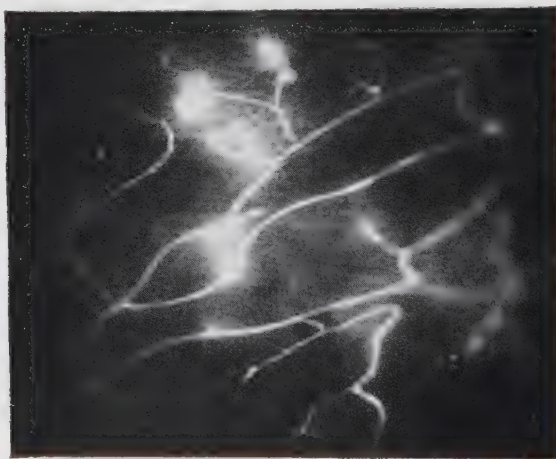


Abb. 7: Gesteigerte Kapillarpermeabilität mit kugelförmigen Fluoreszenzaustritten. Rattenmesenterium, Gerinnungsstörung nach Thrombininfusion, Fluorochromierung der Plasmaproteine. Fluoreszenzbeobachtung, 50mal.

Minuten nach der Injektion. Diese gesteigerte Permeabilität betraf immer die Kapillaren und meist auch die Arteriolen und Venolen. Bevorzugt befallen waren wiederum geschlängelt verlaufende Gefäßstrecken, an denen die Fluoreszenz zuerst und am stärksten austrat. Neben der gesteigerten Kapillarpermeabilität wiesen einzelne Tiere auch eine manifeste Blutungsneigung auf. Bei drei Tieren entstanden spontan während der Beobachtung kugelförmige Blutungen, bevorzugt in der Nähe von Gefäßverzweigungen. Die Strömung in den betroffenen Gefäßabschnitten änderte sich nicht sichtbar. Einzelne Kugelblutungen blieben

nach der ersten Eruption der Erythrozyten an Größe konstant, andere vergrößerten sich zusehends. Bei 5 Tieren erwies sich trotz der gestörten Gerinnungsverhältnisse die Kapillarpermeabilität als nicht gestört.

Um die von J ü r g e n s und S t u d e r (20) als besonders toxisch beschriebene Thrombin-Reinfusion, bei der sie im Stadium der Afibrinogenämie tödlich verlaufende hämorrhagische Schockzustände sahen, für unsere Fragestellung nachzuprüfen, gaben wir bei 4 Tieren 45 Min. nach der ersten Thrombininfusion eine zweite große Thrombininfusion. In ihrem Gefolge verstärkte sich wieder die Thrombozytopenie bis auf Werte wie in der ersten Gruppe. Auch die humoralen Gerinnungsfaktoren sanken noch stärker ab. So lag das Prothrombin in allen 4 Fällen unter 10% der Norm. Bei 2 von diesen 4 Tieren, die 45 Min. nach der ersten Thrombininfusion noch eine ungestörte Kapillarpermeabilität gezeigt hatten, trat im Anschluß an die Thrombinreinfusion eine deutliche Steigerung der Permeabilität auf mit sofortigem diffusen Austritt der Fluoreszenz. 2 Tiere erwiesen sich in ihrer Gefäßdurchlässigkeit auch weiterhin als normal, so daß insgesamt in dieser Gruppe sich in 13 von 15 Fällen eine pathologisch erhöhte Kapillarpermeabilität entwickelte.

In einer weiteren Reihe von 6 Tieren wurde die Permeabilität 3 bis 4 Stunden nach der Thrombininfusion geprüft. Zu diesem Zeitpunkt waren die Thrombozyten nur noch gering vermindert und auch die Gerinnungsfaktoren im Plasma bis auf die Hälfte der Norm angestiegen. Das Prothrombin lag mit durchschnittlich 30% noch relativ am niedrigsten. Von 6 untersuchten Tieren wiesen 3 normale Gefäßdurchlässigkeit auf, während die restlichen 3 sofort nach der Injektion des Fluorochroms umschriebene, mäßig starke Farbaustritte zeigten. Im ganzen waren die Erscheinungen deutlich geringer als in der Gruppe auf dem Höhepunkt der Gerinnungsstörung. Eine Reinjektion von Thrombin 3 bis 4 Stunden nach der ersten Infusion bewirkte wieder ein sofortiges Absinken der Thrombozyten und eine stärkere Verminderung der humoralen Gerinnungsfaktoren, besonders des Prothrombins, ohne daß in den geprüften 2 Fällen die vor der Reinjektion normale Gefäßpermeabilität kurzfristig eine Änderung erfuhr.

Zusammenfassung (Tabelle 4). In 32 Fällen wurde eine Gerinnungsstörung durch intravenöse Injektion von Thrombin hervorgerufen. Es entwickelte sich ein Zustand verminderter Gerinnbarkeit, der durch eine initiale Thrombozytopenie und eine Verminderung der Prothrombinzeit, der Faktoren V, VII und Prothrombin charakterisiert war. Eine völlige Defibrinierung des strömenden Blutes gelang nicht wegen der Unmöglichkeit, ausreichend aktives Thrombin in so großer Menge zuzuführen. So kam es bei 5 Tieren im akuten Versuch 3 bis 5 Minuten nach der Thrombingabe zu tödlichen Lungenembolien als Zeichen dafür, daß die in der Zeiteinheit injizierte Thrombinaktivität die Toleranzgrenze zum Teil überschritten hatte. Im Anschluß an die Thrombininfusion geprüft, erwies sich die Gefäßdurchlässigkeit im Stadium des initialen Plättchen-

sturzes auf unter 10% der Norm bei mäßiger humoraler Gerinnungsverzögerung als nicht gestört. 45 bis 90 Minuten später, auf dem Höhepunkt der Koagulopathie bei einem durchschnittlichen Prothrombinspiegel von 13,2% mit deutlicher, aber weniger starker Verminderung von Faktor V und VII, während die Plättchen wieder angestiegen waren, erwies sich von 15 Tieren bei 8 die Permeabilität als deutlich, bei 2 weiteren als gering gesteigert. Gleichzeitig bestand bei 5 Tieren eine manifeste Blutungskrankheit. Wurde bei den Tieren, die zu diesem Zeitpunkt eine noch nicht sichtbar gesteigerte Kapillardurchlässigkeit zeigten, eine Reinjektion von Thrombin vorgenommen, die wieder von dem initialen Plättchenabfall und einer weiteren Verminderung von Prothrombin begleitet war, so entwickelte sich in 2 von 4 Präparaten jetzt eine starke Permeabilitätssteigerung. 3 bis 4 Stunden nach Thrombininfusion war mit einer teilweisen Normalisierung der Gerinnungsverhältnisse in 3 von 6 Tieren die Kapillarpermeabilität normal. Sie blieb auch in 2 Untersuchungen nach Thrombinreinjektion trotz des Wiederabsinkens von Thrombozyten und Prothrombin über 5 bis 10 Minuten normal. 3mal bestand noch eine gesteigerte Blutungsneigung.

Zahl der Fälle	Zeit nach Thrombingabe	Thrombozyten	Quicktest %	Faktor VII %	Prothrombin %	Faktor V %	Kapillarpermeabilität			Blutungen
							deutlich	gering	normal	
							gesteigert			
11	sofort	42 800 (5)	42,1 (7)	23,1 (9)	21,2 (9)	43,2 (6)	—	—	11	1
15	45—90 Min.	280 000 (9)	35,2 (11)	30,2 (11)	13,2 (11)	27,5 (8)	8	2	5	5
davon 4	nach Reinjekt.	40 300 (3)	23,5 (4)	31,7 (4)	4,2 (4)	27,5 (2)	2	—	2	
6	3—4 Std.	417 000 (4)	64,5 (4)	44,8 (4)	30,2 (4)	50,2 (4)	3	—	3	3
davon 2	nach Reinjekt.	42 500 (2)	23,0 (2)	35,0 (2)	3,0 (2)	—	—	—	2	

Tab. 4: Durchschnittswerte der Ergebnisse nach Thrombininfusionen
(in Klammern die Zahl der jeweils untersuchten Fälle)

Die Kapillarpermeabilität bei der Koagulopathie nach Thrombodyminjektion

Die Salze seltener Erden besitzen eine gerinnungshemmende Wirkung. Das Neodymsulfoisonikotinat (23) hat als „Thrombodym“ Eingang in die menschliche Antikoagulantientherapie gefunden. Es verlängert nach intravenöser Anwendung sofort die Prothrombinzeit und vermindert das Prothrombin für meh-

rere Stunden (24), wobei die Wirkung wahrscheinlich über eine intravasale Fällung von Prothrombin zustandekommt (25, 26). Nebenwirkungen wurden bei diesem Präparat außer einer Blutungsneigung bei Überdosierung bisher nicht beschrieben. Wir besitzen im Thrombodym also ein Mittel, um den Prothrombinspiegel in kurzer Zeit ohne Nebeneffekte zu senken.

Methodik. Wir verwendeten das handelsübliche Präparat (Auer, Berlin), das in einer 2,5%igen neutralen Lösung vorliegt. Von ihm gaben wir 0,3 ml/100 g Körpergewicht intravenös im Anschluß an die Testdosis des Fluorochroms.

Ergebnisse

Die nach 15 bis 30 Minuten im Oxalatplasma bestimmten Gerinnungsfaktoren ließen in allen untersuchten Fällen konstant nur noch Spuren von Prothrombin und Faktor VII erkennen. Dementsprechend war auch die Prothrombinzeit nach Quick unmeßbar verlängert. Der Faktor V war ebenfalls erheblich, wenn auch weniger stark abgefallen. Da nach Zusatz von reinem Thrombin zu Oxalatplasma sich nur ein spärliches Gerinnsel bildete, muß auch eine Verminderung von Fibrinogen angenommen werden. Wegen der Konstanz der gerinnungsverzögernden Wirkung wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungsreihe auf eine jedesmalige Bestimmung der Gerinnungsfaktoren verzichtet. Die Thrombozyten zeigten nur eine geringe Verminderung auf durchschnittlich 223 000. Wir hatten also nach Thrombodym eine praktisch isolierte Störung der humoralen Gerinnungsfaktoren vor uns. Entsprechend der praktisch völligen Eliminierung von Prothrombin und Faktor VII ging die Koagulopathie mit einer hämorrhagischen Diathese einher. Sie manifestierte sich in einem Teil der Präparate durch große Spontanblutungen in die Beobachtungskammer, die eine sichere Beobachtung der Mesenterialgefäße hinsichtlich von Farbaustritten unmöglich machten. Alle elf Tiere, die sofort nach der Thrombodymgabe untersucht wurden, zeigten das Bild der gesteigerten Durchlässigkeit der Gefäße. Es kam zu diffusen Fluoreszenzaustritten, die zuerst und bevorzugt an Gefäßkrümmungen auftraten, später oft die ganze terminale Strombahn betrafen. Das Bild entsprach den aus den vorhergehenden Untersuchungsgruppen bekannten Verhältnissen. In 3 Fällen handelte es sich um eine starke, in 2 weiteren um eine geringe Permeabilitätssteigerung, während in den übrigen Fällen die Durchlässigkeit für Erythrozyten, die Blutungsneigung im Vordergrund stand.

Eine Stunde nach der Thrombodyminjektion hatte sich an dem Gerinnungsstatus bei einer geringen Zunahme von Prothrombin und Faktor V nichts wesentliches geändert. Die in 2 Fällen geprüfte Gefäßpermeabilität ließ unverändert eine deutliche Steigerung erkennen.

24 Stunden nach der Gabe des Antikoagulans war die Gerinnungsstörung weitgehend gebessert. Nach Thrombinzusatz zu Plasma *in vitro* bildete sich

ein festes Gerinnsel aus, so daß auch ein ausreichender Fibrinogenspiegel bestand. Die Kapillarpermeabilität war zu diesem Zeitpunkt nicht mehr sicher gestört. Wegen der Ausbildung von Blutungen im Mesenterialfett kann jedoch noch auf eine gesteigerte Gefäßlädierbarkeit geschlossen werden.

Zusammenfassung (Tabelle 5). Nach intravenöser Injektion von Neodymsulfoisonikotinat (Thrombodym) kam es sofort zu einer schweren, isoliert die humoralen Gerinnungsfaktoren betreffenden Gerinnungsverzögerung mit praktisch völligem Verlust von Prothrombin und Faktor VII sowie weitgehender Verminderung von Faktor V und Fibrinogen. Damit geht eine hämorrhagische Diathese einher, die in 6 von 11 Fällen das Bild beherrschte. In den übrigen 5 Tieren entwickelte sich 3mal eine deutliche, 2mal eine geringe Permeabilitätssteigerung. In den Fällen einer manifesten Blutungsneigung kam es zu massiven Blutaustritten im Präparat mit Fluoreszenz der Spülflüssigkeit, so daß hier eine gegenüber allen Blutbestandteilen erhöhte Gefäßdurchlässigkeit bestand. Eine Stunde nach Thrombodyminjektion waren die Verhältnisse hinsichtlich Gerinnungs- und Permeabilitätsstörung unverändert. 24 Stunden später hatten sich die Gerinnungsfaktoren deutlich gebessert, die Kapillarpermeabilität normalisiert.

Zahl der Fälle	Zeit nach Thrombodinjekt.	Thrombozyten	Quicktest %	Faktor VII %	Prothrombin %	Faktor V %	Kapillarpermeabilität			Blutungen
							deutlich	gering	normal	
							gesteigert			
11	0	222 660 (6)	1 (5)	1 (5)	1,6 (5)	14,2 (5)	3	2	—	6
2	1 Std.	270 000	1	1	4,5	24,5	2		—	1
2	24 Std.	346 000	47	40	41	33	—	—	2	2

Tab. 5 : Die Durchschnittswerte der Untersuchungen nach Thrombodyminjektion (in Klammern die Zahl der untersuchten Fälle).

Die Kapillarpermeabilität während der Gerinnungshemmung nach Heparininjektion

Während in den bisher vorgenommenen Versuchen die Permeabilität nach Eingriffen geprüft wurde, die eine Verminderung der verschiedenen Gerinnungskomponenten hervorriefen, blieb noch der Zustand einer Gerinnungsstörung durch Vermehrung gerinnungshemmender Substanzen zu untersuchen. Der bekannteste, auch unter normalen und krankhaften Bedingungen beim Menschen im Blut vorkommende gerinnungshemmende Stoff ist das Heparin. Wenn man Heparin intravenös in ausreichender Menge injiziert, so kommt es zu einer nach einigen Minuten einsetzenden und mehrere Stunden anhaltenden totalen Un-

gerinnbarkeit des Blutes. Diese Beobachtung wird in neuerer Zeit zur Standardisierung von Heparinpräparaten verwendet (27). Infolge des breiten Spektrums seiner Reaktionsfähigkeit mit Globulinen, mit denen es lösliche Komplexe bildet (28), greift es an mehreren Stellen in das Gerinnungssystem ein und kann als Antithrombin, als Antiprothrombin und Antithromboplastin wirken. Unter den Nebenwirkungen ist ein vorübergehendes Absinken der Thrombozyten zu erwähnen, das von mehreren Seiten mit verschiedenen Präparaten in unterschiedlichem Ausmaß beobachtet worden ist (28 bis 31). Es soll auf einer intravasalen Plättchenagglutination beruhen (32).

Methodik. Wir gaben 10 Tieren Heparin in wechselnder Dosierung (von 400 bis 3200 IE/100 g Körpergewicht, Thrombophob-Nordmark). Eine leichte Thrombozytopenie mit durchschnittlich 304 000 Thrombozyten blieb wahrscheinlich auf die Versuchsergebnisse ohne Einfluß. Kurz vor der Heparininjektion wurde eine Testdosis Brillantsulfoflavin injiziert.

Ergebnisse

Wir beobachteten nach einer Heparindosis von 1600 bis 3200 IE/100 g in allen 7 Fällen eine gesteigerte Gefäßpermeabilität, die 6mal stark war. Es kam sofort nach der Injektion von Heparin zu diffusen Farbaustritten aus den Gefäßen, in 3 Fällen außerdem zu spontanen Blutungen im Mesenterium. In 3 Versuchen, bei denen 400 bis 800 IE Heparin/100 g gegeben wurden, war eine Steigerung der Permeabilität nicht sicher festzustellen. Es traten als Zeichen der Gerinnungsstörung auch in diesen Fällen Blutungen auf, die eine Beobachtung der Fluoreszenzerscheinungen an den Gefäßen erschwerten. Bei allen 10 Untersuchungen blieb das nach dem Versuch durch Herzpunktion gewonnene Blut flüssig. Es hat sich also in allen Fällen um eine komplette Gerinnungshemmung durch Heparin gehandelt.

Zahl der Fälle	Heparin IE/100 g	Thrombozyten	Kapillarpermeabilität			Blutungen
			deutlich	gering	normal	
			gesteigert			
3	400— 800	—	—	(2)	1	2
7	1600—3200	304 300	6	1	—	3

Tab. 6: Die Durchschnittswerte der Ergebnisse nach Heparininjektion

Zusammenfassung (Tabelle 6). Bei 10 Tieren wurde Heparin in einer Dosis intravenös gegeben, die zu einer vollständigen Ungerinnbarkeit führte. Gleichzeitig kam es zu einem geringen Thrombozytenabfall. 5mal manifestierte sich eine Blutungsdiathese. In 7 Versuchen mit einer Heparindosis von 1600 bis

3200 IE/100 g entstand eine Steigerung der Gefäßdurchlässigkeit. Nach einer Dosis von 400 bis 800 IE/100 g war die Permeabilität nicht sicher verändert.

Besprechung der Ergebnisse

Die vielfachen experimentellen Gerinnungsstörungen lassen sich in 2 Gruppen einteilen, in Fälle mit einer Verminderung der Thrombozyten und in Fälle mit Störungen im System der plasmatischen Gerinnungsfaktoren. Wie in der menschlichen Pathologie, die vorwiegend nur bei kongenitalen hämorrhagischen Diathesen reine, isolierte Gerinnungsstörungen kennt, gibt es auch in unserem Material zwischen den beiden Gruppen Überschneidungen und Verflechtungen. Das gilt besonders für die Thrombozytopenien, die als sekundäre oder begleitende Störungen pathogenetisch uneinheitlich sind. Sie demonstrieren die Labilität der Thrombozyten, die auf die vielfältigsten Einwirkungen hin mit einer Verminderung reagieren. Wir fanden ausgeprägtere Thrombozytopenien nach Injektion von Antiplättchenserum, aber auch nach Injektion von Antigefäßserum, im Anschluß an Thrombininfusionen und nach Injektion von unfiltrierten Trypsinaufschwemmungen. Eine geringe Abnahme fand sich auch bei anderen Versuchsansätzen, ja wir beobachteten eine gewisse Thrombozytenverminderung, zum Teil bis auf die Hälfte der Norm auch bei Kontrolluntersuchungen ohne Anwendung differenter Mittel. Diese geringen und kurzfristigen Reaktionen, für die es auch Beispiele aus der Klinik gibt, wie eine vorübergehende Thrombozytopenie nach intravenösen Infusionen und Bluttransfusionen, nach operativen Eingriffen, bei allergischen Reaktionen, thrombozytopenische Phasen während des Menstruationszyklus, im Tagesrhythmus, sind für die Pathologie der hämorrhagischen Diathesen von geringerem Interesse und spielen auch für unsere Fragestellung sicher nur eine untergeordnete Rolle.

Die ausgeprägteste Thrombozytopenie in unserem Material entwickelte sich nach Injektion von Antiplättchenserum. In 12 dieser 15 Fälle entstand dabei eine Durchlässigkeitssteigerung der Gefäße. Neben der schweren hämorrhagischen Diathese und der verminderten Kapillarresistenz geht diese Krankheit, die manche Ähnlichkeit mit menschlichen Thrombopenie-Formen hat (33), also auch mit einer gesteigerten Kapillarpermeabilität einher. Daß für diese Kapillarstörung nicht ein einfacher Thrombozytenmangel allein verantwortlich ist, wird durch die Beobachtungen nach Anwendung eines Antigefäßserums unterstrichen. Wie es der experimentellen Pathologie bekannt ist, erzeugt ein solches Antiserum eine von der thrombopenischen Purpura nicht unterscheidbare Blutungskrankheit (8). Unsere Beobachtungen ergaben ferner auch eine Permeabilitätssteigerung der Kapillaren nach Injektion des Antigefäßserums. Sie tritt zum Unterschied von der sofort nach Antiplättchenserum entstehenden Durchlässigkeitssteigerung

in voller Stärke erst 24 Stunden später auf. Interessanterweise ging sie ebenfalls mit einer, wenn auch nicht so starken Thrombozytopenie einher. Eine pathogenetisch sich ausprägende Verwandtschaft zwischen Thrombozyten und Gefäßendothel, die *Bedson* (34) wegen einer Schwellung der Endothelien nach Anti-thrombozytenseruminjektion und *Ackroyd* (33) wegen der Beziehungen von Gefäßläsion und Thrombozytopenie nach Sedormid annahmen, läßt sich auch hinsichtlich der Gefäßpermeabilität folgern.

Ebenso wenig, wie eine Verminderung der Thrombozyten allein eine Blutungskrankheit verursacht, eine Tatsache, die dem Kliniker bei den Kranken mit *M. Werlhof* am eindrucksvollsten bekannt ist, folgt einer Abnahme der Plättchenzahl immer eine Permeabilitätssteigerung der Gefäße. Dies zeigen besonders die Beobachtungen nach Thrombininfusion. Da freies Thrombin eine Kettenreaktion mit Zerfall von Thrombozyten und Beschleunigung weiterer Thrombinbildung anregt, kommt es sofort nach Thrombininfusion zu einer Thrombozytopenie im peripheren Kreislauf. Obwohl hierbei die Werte der antiplättchenbedingten Purpura erreicht werden, ließ sich in keinem dieser Fälle eine Permeabilitätssteigerung beobachten. Zumindest eine transitorische, wenn auch starke Thrombozytopenie ist also ohne Einfluß auf die Kapillarpermeabilität.

Die 2. Gruppe der Versuche betraf Blutgerinnungsstörungen durch Eingriffe an den plasmatischen Gerinnungsfaktoren. Wie gezeigt wurde, läßt sich eine vorübergehende thrombozytopenische Komponente bei diesen Zuständen nicht immer vermeiden. So treten passagere Plättchenverminderungen nach Trypsin und Thrombin, gering auch nach Heparin und Thrombolyd auf. Sie beruhen auf einer peripheren Thrombozytenagglutination, die durch die intravenöse Zufuhr dieser Mittel hervorgerufen wird. Da die Thrombozytopenie im Knochenmark und die Ausschwemmung der Plättchen in den peripheren Kreislauf im Unterschied zum Beispiel von dem durch Antithrombozytenserum verursachten Plättchenmangel (35) in diesen Fällen nicht gestört ist, wird das vorübergehende Absinken der Thrombozyten in kurzer Zeit wieder ausgeglichen. Die experimentellen Koagulopathien dieser Reihe betreffen mit Ausnahme der Hyperheparinämie immer mehrere Gerinnungsfaktoren. So nehmen sowohl nach Thrombin- und Trypsininfusionen als auch nach Thrombolyd das Prothrombin, die Faktoren V und VII, das Fibrinogen und die Prothrombinzeit nach *Quick* mehr oder weniger stark ab. Nach Thrombin- und Trypsinanwendung ist wahrscheinlich entsprechend den bisherigen Kenntnissen (36 bis 38) ferner mit einer Aktivierung fibrinolytischer Vorgänge zu rechnen. Auch in der menschlichen Pathologie kennen wir monosymptomatische Koagulopathien nur bei angeborenen, vererbten Gerinnungsstörungen und auch hier hat die neuere Forschung zum Teil noch Mischformen und kombinierte Defekte entdeckt. Das hängt sicher nicht nur mit der sehr engen reaktionskinetischen Verknüpfung der verschiedenen

Gerinnungsteilnehmer zusammen, sondern auch mit genetischen und chemischen Verwandtschaften.

Die Senkung der Gerinnungsfaktoren war nach Thrombodyminjektion am stärksten und führte hier zu einem praktisch kompletten Mangel an Prothrombin und Faktor VII und einer starken Verminderung von Faktor V und Fibrinogen. Dieser Zustand war immer mit einer Blutungsneigung und mit einer Steigerung der Kapillarpermeabilität verbunden, die sich häufig nicht voneinander abgrenzen ließen. Weniger stark waren die Senkungen der gleichen Gerinnungsfaktoren nach Thrombininfusionen. Da Thrombin die autokatalytische Phase der Prothrombinumwandlung in Gang bringt, beobachteten wir in diesen Fällen neben der Fibrinogenverminderung die stärkste Abnahme beim Prothrombin, das während der durch Thrombin induzierten intravasalen, subklinisch ablaufenden Gerinnung verbraucht wird. Auch dieser pathologische Gerinnungsstatus ging in $\frac{2}{3}$ der Fälle mit einer gesteigerten Gefäßpermeabilität einher. Anscheinend ist eine gewisse zeitliche Dauer der Koagulopathie notwendig bis zur Ausbildung der Permeabilitätssteigerung, wenn die Gerinnungsstörung nicht hochgradig ist. Dies geht aus den Beobachtungen nach Thrombininfusionen hervor, wo in den ersten Minuten nach Thrombinerst- oder -zweitinjektion trotz des sofortigen Reagierens der Gerinnungsfaktoren die Permeabilitätsverhältnisse meist unverändert blieben. Eine kritische Grenze, bei deren Unterschreiten immer eine Störung der Permeabilität zu erwarten ist, läßt sich deshalb nicht sicher aufstellen. Sicher liegt sie aber, auch bei polyvalenten Gerinnungsstörungen bei Verminderungen unter 10% der Normalwerte. Von den Thrombinversuchen abweichend verhielten sich die Präparate nach Trypsinanwendung, bei denen trotz des mit den Thrombintieren vergleichbaren Gerinnungsstatus schon in den auf die Trypsininjektion folgenden Minuten eine Erhöhung der Gefäßdurchlässigkeit auftrat. Dies darf als Hinweis auf die allgemeinere proteolytische Wirkung von Trypsin gegenüber den Plasmaproteinen im Vergleich zu der begrenzteren, mehr spezifisch ausgerichteten Thrombinwirkung aufgefaßt werden.

Der Zustand nach Heparininjektion ist das klassische Beispiel einer Gerinnungshemmung, die bis zur Aufhebung der Gerinnbarkeit wie bei den hier angewendeten Dosen oder wie im experimentellen anaphylaktischen Schock führen kann. Hierbei kommt es zu einer Blutungsneigung, die entsprechend unseren Befunden in Abhängigkeit von der Dosis von einer Steigerung der Gefäßpermeabilität begleitet wird.

Weitere experimentelle und klinische Hinweise für Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Gefäßpermeabilität

Die vorliegenden Untersuchungen sprechen für eine Beeinflussung der Kapillarpermeabilität durch Blutgerinnungsvorgänge. Lassen sich im Schrifttum Hin-

weise für solche Beziehungen finden? Dazu ist einleitend zu bemerken, daß eine gesteigerte Gefäßpermeabilität rein klinisch nicht sicher in Erscheinung zu treten braucht. Die gestörte Kapillarpermeabilität führt zwar zur Ödembereitschaft. Ein Ödem wird sich aber erst beim Hinzutreten weiterer Faktoren manifestieren, wobei Störungen im Wasser- und Elektrolythaushalt eine ausschlaggebende Rolle spielen. So können auch die mit einer gestörten Gefäßdurchlässigkeit einhergehenden gesteigerten Eiweißaustritte aus den Kapillaren klinisch greifbare Symptome nicht verursachen, wenn nicht komplizierende Störungen hinzutreten, wie Proteinverluste durch die Nieren nach außen, gestörter Lymphtransport oder beeinträchtigte Organfunktionen. Da klinisch brauchbare Prüfungen der Kapillarpermeabilität erst in den letzten Jahren entwickelt wurden, sind für unsere Fragestellung verwertbare Angaben im Schrifttum spärlich. Man fand bisher eine gesteigerte Kapillarpermeabilität bei Infektionskrankheiten (39, 40), nach Röntgenbestrahlung (41), nach Leukotoxininjektionen (42), bei akuter und chronischer Nephritis (43), bei Polyarthrit (44, 45), bei Hepatitis (46) und Leberzirrhose (47), bei Mangelernährung (48) und mehr oder weniger stark bei allen mit Ödembildung einhergehenden Zuständen (49). Wie man aus dieser kurzen Aufzählung sieht, fand sich eine Permeabilitätsstörung auch bei Krankheiten, zu deren klinischem Bild das Ödem nicht gehört, wie bei den Infektionskrankheiten.

Bei hämatologischen Erkrankungen sind Störungen der Kapillarpermeabilität bisher bei Perniziosa, bei Lymphogranulomatose (50) und bei 2 nicht näher bezeichneten Purpurafällen (39) beschrieben worden. Bei den kongenitalen Blutgerinnungsstörungen ist bisher von Permeabilitätsstörungen nichts berichtet worden. Bei 2 Fällen von kongenitaler Afibrinogenämie beobachtete man ein schnelles Übertreten eines Teiles des injizierten Fibrinogens aus der Blutbahn in das interstitielle Gewebe innerhalb von Stunden (51). Man könnte deshalb auf eine gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit bei dieser Gerinnungsstörung schließen, zumal B e n n h o l d (52) bei einem Fall von kongenitaler Analbuminämie das injizierte Albumin sehr lange über mehrere Wochen im Blut fand, obwohl man eigentlich wegen des für den Wasserhaushalt gegenüber dem Fibrinogen ungleich größeren physiologischen Wertes des Albumins bei Albuminmangel eine markante Steigerung der Gefäßpermeabilität postulieren würde. Von den erworbenen Störungen der Blutgerinnung sind Untersuchungen bei Antikoagulantienanwendung zu erwähnen. M a t t s (53 bis 55) fand nach Anwendung von Dicumarin und Heparin eine gesteigerte Eiweißdurchlässigkeit der Gefäße im Landitest und einen vermehrten Übertritt von Fluorescein ins Kammerwasser des Auges bei Kaninchen. Vitamin K₁ oder die Injektion von angereicherten Gerinnungsfaktoren V und VII unterdrückten die gesteigerte Fluorescein-Ausscheidung nach Dicumarinanwendung. Andere Autoren kamen zu gleichen Ergebnissen (56 bis 58), nur D e u t s c h (59) fand keine Änderung des Landistestes unter Tromexan. Damit

scheint nachgewiesen, daß die Antikoagulantien neben ihrer gerinnungshemmenden Wirkung einen permeabilitätssteigernden Effekt besitzen. Ferner verdienen die akuten und chronischen Leberparenchymerkrankungen in diesem Zusammenhang eines Hinweises, die wie erwähnt häufig mit einer vermehrten Gefäßpermeabilität einhergehen. Bei Hepatitis und Leberzirrhose finden sich regelmäßig ausgeprägte Verminderungen von zahlreichen Gerinnungsfaktoren (60 bis 63), die mit der Schwere der Leberfunktionsstörung parallel gehen. Da wir wissen, daß ein kombinierter Defekt an mehreren Gerinnungsfaktoren immer besonders schwerwiegend ist, liegt eine Verbindung zwischen Gerinnungs- und Permeabilitätsstörungen bei diesen Krankheiten nahe. Sie ist jedoch bisher noch nicht exakt untersucht worden.

Der mögliche Wirkungsmechanismus der Blutgerinnung auf die Gefäßpermeabilität ist an anderer Stelle diskutiert worden (64). Auf Grund unserer noch recht unvollständigen anatomischen und physiologischen Kenntnisse kann man annehmen, daß die Permeabilitätsvorgänge an den Kapillaren, besonders für Proteine, in Beziehungen zu der endokapillären plasmatischen Grenzschicht der Blutgefäße stehen. Diese Grenzschicht wird offenbar durch die Gerinnbarkeit des Blutes beeinflusst. Neuere gerinnungsphysiologische Befunde führen zu der begründeten Annahme einer kontinuierlich intravasal ablaufenden Modifikation des Gerinnungsvorganges. Ein ungestörtes, in normalem dynamischen Gleichgewicht stehendes Blutgerinnungssystem hält danach die physiologische Gefäßpermeabilität mit aufrecht. Eine Störung der Blutgerinnung im Sinne einer verminderten Gerinnbarkeit steigert die Gefäßdurchlässigkeit.

Zusammenfassung

Der Einfluß des Blutgerinnungssystems auf die Kapillarpermeabilität wurde am lebenden Rattenmesenterium kapillarmikroskopisch durch Fluorochromierung der Plasmaproteine untersucht. Es fand sich regelmäßig eine Steigerung der Gefäßpermeabilität, wenn die Blutgerinnbarkeit vermindert wurde. Im einzelnen wurden folgende pathogenetisch verschiedenartigen Gerinnungsstörungen experimentell erzeugt: eine akute Thrombozytopenie durch Antiplättchenserum im Vergleich mit einer durch ein Antigefäßserum hervorgerufenen Blutungsneigung, schwere Koagulopathien nach intravenöser Zufuhr von Thrombin, Trypsin, Neodymsulfoisonikotinat oder Heparin. In allen Versuchsgruppen entsprach die Steigerung der Kapillarpermeabilität etwa der Schwere der Gerinnungsstörung. Eine vorübergehende Thrombozytopenie, die für ca. 30 Min. nach Thrombin- und Trypsininfusion auftrat, hatte keinen sicheren zusätzlichen Einfluß auf die Gefäßdurchlässigkeit. Die immunologisch bedingte Thrombozytopenie führte jedoch zu einer schnellen und starken Permeabilitätssteigerung, die nicht immer mit den Zeichen der gesteigerten Gefäßfragilität parallel ging.

Als gerinnungsphysiologische Erklärung für die nachgewiesenen Zusammenhänge zwischen Blutgerinnung und Gefäßpermeabilität wird eine kontinuierlich intravasal ablaufende modifizierte Blutgerinnung angenommen, die über die endokapilläre plasmatische Grenzschicht die Permeabilität der Gefäßwand beeinflusst. Eine Störung des dynamischen Gerinnungsgleichgewichts im Sinne einer herabgesetzten Gerinnbarkeit verursacht eine Steigerung der Gefäßpermeabilität.

Die Einzeldaten der Untersuchungsbefunde können vom Verfasser angefordert werden.

Summary

The influence of blood coagulation on capillary permeability was studied on the mesenterium of the living rat using a capillary microscope. Visualization is made by fluorochromy of plasma proteins. Increased capillary permeability usually follows induced states of hypocoagulation. The following clotting disorders were studied in detail: acute immunologic thrombocytopenia (anti-platelet serum) was compared to the condition following injection of an anti-vascular serum. Other severe clotting abnormalities caused by intravenous injections of thrombin, trypsin, neodym or heparin were also studied. The changes in capillary permeability almost parallel the severity of the clotting disorder. A temporary thrombocytopenia of 30 minutes caused by thrombin or trypsin infusion seems to be without effect on the vascular permeability. Immunological thrombocytopenia however, is always associated with a rapid and important increase of capillary permeability.

Based on these experiments the idea of a continuous intravascular clotting is accepted. This modified coagulation influences the endocapillar plasmatic layer. An increase capillary permeability is observed if the dynamic equilibrium of the factors of blood coagulation are unbalanced and lead to hypocoagulability.

Résumé

L'influence de la coagulation sanguine sur la perméabilité capillaire est étudiée par microscopie capillaire sur le mésentérium du rat vivant. Cette méthode est réalisée par fluorochromie des protéines plasmatiques. On observe fidèlement une augmentation de la perméabilité capillaire après avoir provoqué une hypocoagulabilité. Les coagulopathies suivantes ont été étudiées en particulier: une thrombocytopénie aiguë immunologique (sérum antiplaquettaire) comparée aux troubles causés par un sérum antivasculaire, coagulopathies sévères après injection intravéneuse de thrombine, trypsine, néodym ou héparine. Les troubles de la perméabilité sont pratiquement parallèles au défaut de la coagulation. Une

thrombocytopénie passagère d'approximativement 30 minutes, causée par infusion de thrombine ou trypsine semble ne pas influencer la perméabilité vasculaire. La thrombocytopénie immunologique par contre cause une augmentation rapide et franche de la perméabilité capillaire bien que les résultats des tests de la fragilité capillaire ne sont pas obligatoirement en parallèle avec ces expériences.

Comme explication physiologique du rapport observé entre la coagulation sanguine et la perméabilité des vaisseaux, l'hypothèse d'une coagulation intravasculaire continue mais modifiée est proposée. Cette coagulation déterminerait la perméabilité du vaisseau en influençant la couche plasmatique endocapillaire. Une augmentation de la perméabilité capillaire est observée si l'équilibre dynamique des facteurs de la coagulation est rompu dans le sens de l'hypocoagulabilité.

Literatur

- (1) Witte, S.: Eine neue Methode zur Untersuchung der Kapillarpermeabilität. *Zschr. exp. Med.* **129**: 181 (1957).
- (2) Witte, S.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Kapillarpermeabilität. *Z. exp. Med.* **129**: 358 (1957).
- (3) Witte, S. und Schrickner, K. Th.: Fluoreszenzmikroskopische Befunde über eine Blutgerinnungsfunktion in vivo. 6. Europ. Hämat.-Kongreß, Kopenhagen, 1957.
- (4) Witte, S. und Wilmes, K.: Die Wirkung von Rutin bei der experimentellen thrombopenischen Purpura der Ratte. *Acta haemat.* **7**: 89 (1952).
- (5) Witte, S.: Experimentelle thrombozytopenische Purpura und ACTH. *Verh. deutsch. Ges. inn. Med.* **58**: 573 (1952).
- (6) Witte, S. und Wilmes, K.: Die Beeinflussung der experimentellen thrombozytopenischen Purpura der Ratte durch ACTH. *Z. exp. Med.* **120**: 347 (1953).
- (7) Feissly, R. et Lüdin, H.: Microscopie par contraste de phase: Applications à Phématologie. *Rev. d'Hémat.* **4**: 481 (1949).
- (8) Clark, W. G. and Jacobs, E.: Experimental nonthrombocytopenie vascular purpura. A review of the japanese literature, with preliminary confirmatory report. *Blood* **5**: 320 (1950).
- (9) Stefanini, M. and Mednicoff, J. B.: Demonstration of antivessel agents in serum of patients with anaphylactoid purpura and periarteriitis nodosa. 46th Meet. Amer. Soc. clin. Invest. 1954.
- (10) Deutsch, E. und Frischauf, H.: Untersuchungen über die Wirkung des Trypsins auf die Blutgerinnung. *Acta haemat.* **13**: 161 (1955).
- (11) Stormorken, H.: The effect of trypsin on blood coagulation and the mechanism of its action. *J. Lab. a. Clin. Med.* **48**: 519 (1956).
- (12) Innerfield, I. F., Angrist, A. A. and Schwartz, A. W.: Parenteral administration of trypsin. *J. Amer. Med. Ass.* **152**: 597 (1953).
- (13) Roach, H. D. and Laufman, H.: The use of intravenous trypsin in experimental pulmonary embolism. *Surg. etc.* **35**: 45 (1954).
- (14) Innerfield, J. F., Schwartz, A. W. and Angrist, A. A.: Fibrinolytic and anticoagulant effects of intravenous crystalline trypsin. *Bull. New York. Acad. Med.* **25**: 537 (1952).
- (15) Sherry, S., Titchener, A., Gottesman, L., Wasserman, P. and Troll, W.: The enzymatic dissolution of experimental arterial thrombi in the dog by trypsin, chymotrypsin and plasminogen activators. *J. clin. Invest.* **33**: 1303 (1954).

- (16) Witte, S.: Untersuchungen über die sechs wichtigsten Blutgerinnungsfaktoren der weißen Ratte. *Acta haemat.* **10**: 359 (1953).
- (17) Witte, S. und Dirnberger, P.: Klinische Untersuchungen über die Gerinnungsfaktoren Prothrombin, Faktor V und Faktor VII bei Lebererkrankungen und ihre Beeinflussung durch Vitamin K₁ und Synka-Vit. *Klin. Wschr.* **31**: 781 (1953).
- (18) Roskam, J.: Gerinnungs-Kolloquium, 5. europ. Hämat.-Kongr., Freiburg i. Br., 1955.
- (19) Bloom, J. G., Gustavson, K. H. and Swensson, A.: On the reaction of the thrombocytes to submicroscopic particles in vitro. *Acta haemat.* **13**: 57 (1955).
- (20) Jürgens, R. und Studer, A.: Experimentelle temporäre Fibrinopenie nach Thrombininjektion. *Schweiz. med. Wschr.* **78**: 386 (1948).
- (21) Nolf, P. et Adant, M.: La défibrination „in vivo“ par injection intra-veineuse de thrombine chez le chien normal ou hépatectomisé. *Sang.* **25**: 193 (1954).
- (22) Jürgens, R. und Studer, A.: Zur Wirkung des Thrombins. *Helv. Physiol. et Pharm. Acta* **6**: 130 (1948).
- (23) Vincke, E. und Sucker, E.: Über ein neues Antithrombotikum, das Neodymsulfoisonikotinat. *Klin. Wschr.* **28**: 74 (1950).
- (24) Vincke, E.: Die seltenen Erden als Antithrombotika. *Internat. Tagg. Thrombose und Embolie*. Benno Schwabe u. Co., Basel, 1954.
- (25) Wilbrand, M.: Klinische Erfahrungen mit dem neuen Antikoagulans Thrombodium. *Dtsch. med. Wschr.* **78**: 330 (1953).
- (26) Thies, H. A.: Thrombodium und Prothrombinzeit. *Dtsch. med. Wschr.* **79**: 640 (1954).
- (27) Jorpes, J. B., Blombäck, M. and Blombäck, B.: An in vivo method for the assay of heparin. *Internat. Tagg. Thrombose und Embolie*. Benno Schwabe u. Co., Basel, 1954.
- (28) Walton, K. W.: Chemistry and mode of action of heparin and related compounds. *Brit. Med. Bull.* **11**: 62 (1955).
- (29) Quick, A. J.: The coagulation of blood and hemostasis. *Ann. Rev. Physiol.* **237** (1950).
- (30) Hartmann, R. C., Conley, C. L. and Krevans, J. R.: The effect of intravenous infusion of thromboplastin on "heparin tolerance". *J. clin. Invest.* **30**: 948 (1951).
- (31) Marx, R.: Haemostaseologie. *Habil.-Schr.*, München, 1953.
- (32) Copley, A. L.: Thrombosis and thrombo-embolization in blood capillaries. *Internat. Tagg. Thrombose und Embolie*. Benno Schwabe u. Co., Basel, 1954.
- (33) Ackroyd, J. F.: Role of platelets in coagulation, thrombosis and haemostasis, with some observations on platelet dysfunction, including thromboasthenia. *Brit. Med. Bull.* **11**: 21 (1955).
- (34) Bedson, S. Ph.: Blood platelet antiserum, its specificity and rôle in the experimental production of purpura. *Amer. J. Path.* **24**: 469 (1921).
- (35) Witte, S.: Megakaryozyten und Thrombozytopoese bei der experimentellen thrombozytopenischen Purpura. *Acta haemat.* **14**: 215 (1955).
- (36) Schmid, J.: Die Blutgerinnung in Theorie und Praxis. W. Maudrich, Wien, 1951.
- (37) Biggs, R. and Macfarlane, R. G.: Human blood coagulation and its disorders. Blackwell, Oxford, 1953.
- (38) Lenggenger, K.: Weitere Fortschritte in der Blutgerinnungslehre. Georg Thieme, Stuttgart, 1949.
- (39) Küchmeister, H.: Die Klinik der Kapillarfunktionen. *Erg. inn. Med. N. F.* **4**: 461 (1953).
- (40) Ströder, J.: Untersuchungen über Permeabilitätsprobleme bei diphtherischer Intoxikation. *Erg. inn. Med.* **62**: 532 (1942).
- (41) Neumayr, A. und Thurnherr, B.: Zur indirekten Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Kapillaren des Menschen. *Strahlenther.* **86**: 207 (1952).
- (42) Menkin, Y.: Effect of adrenal cortex on capillary permeability. *Amer. J. Physiol.* **129**: 691 (1940).
- (43) Sarre, H. und Sortmann, H.: Kapillarpermeabilität bei akuter und chronischer Nephritis. *Klin. Wschr.* **20**: 8 (1942).

- (44) Astapenko, M. G.: Die Durchlässigkeit der Kapillaren bei infektiösen Arthritiden. *Ter. Arch.* **22**: 69 (1950).
- (45) Mellerowitz, H.: Untersuchungsergebnisse über das Verhalten der Kapillarpermeabilität bei Polyarthritis chronica. *Z. Rheumaforsch.* **11**: 109 (1952).
- (46) Benda, L. und Ellegast, H.: Das Verhalten der Kapillarpermeabilität bei Virushepatitis. *Klin. Med.* **7**: 193 (1952).
- (47) Cachera, R. et Darnis, F.: Les troubles de la perméabilité capillaire dans les hépatites infectieuses et dans les cirrhoses. *Sem. Hôp.* **27**: 1849 (1951).
- (48) Küchmeister, H. und Traube, J.: Kapillarpermeabilität bei Mangelernährung. *Ärztl. Forschg.* **1**: 278 (1947).
- (49) Frey, W.: Nieren und ableitende Harnwege. *Handb. inn. Med.* 4. Aufl., Bd. 8, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1951.
- (50) Neumayr, A., Pakesch, F. und Reimer, E. E.: Über das Verhalten der Kapillarpermeabilität bei verschiedenen Blutkrankheiten. *Wien. Z. inn. Med.* **34**: 200 (1953).
- (51) Gitlin, D. und Borges, W. H.: Studies on the metabolism of fibrinogen in 2 patients with congenital afibrinogenemia. *Blood* **8**: 679 (1953).
- (52) Bennhold, H.: Die Bedeutung der Bluteiweißkörper für den Wasserhaushalt. *Regensb. Jahrb. ärztl. Fortbild.* **4**: 72 (1955).
- (53) Matis, P.: Nebenwirkungen gerinnungshemmender Maßnahmen. *Internat. Tagg. Thrombose und Embolie.* Benno Schwabe u. Co., Basel, 1954.
- (54) Matis, P.: Verhütung dicumarolbedingter Gefäßschädigung durch Rutin, unter besonderer Berücksichtigung der Thromboembolieprophylaxe. *Dtsch. med. Wschr.* 1576 (1949).
- (55) Matis, P. und Hager, H.: Zur Wirkung des Dicumarols auf die Permeabilität der Kapillaren. *Z. exp. Med.* **118**: 131 (1951).
- (56) Neumayr, A. und Schmid, J.: Kapillarpermeabilität und Antithrombon (Dicumarin). *Schweiz. med. Wschr.* **78**: 616 (1948).
- (57) Linke, A.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Dicumarol und Tromexan auf den Prothrombingehalt des Blutes, die Kapillarresistenz und die Kapillarpermeabilität. *Dtsch. med. Wschr.* 775 (1952).
- (58) Nelson, Th. E., Castronova, E. und Hyma, C.: The effect of dicumarol on the transvascular exchange of T-1824-labeled protein in rabbits. *Circul. Res.* **4**: 308 (1956).
- (59) Deutsch, E. und Frischauf, H.: Über die Beeinflussung der Kapillarpermeabilität durch Tromexan. *Klin. Med.* **6**: 385 (1951).
- (60) Stefanini, M. and Petrillo, E.: The relative importance of plasmatic and vascular factors of the hemostasis in the pathogenesis of the hemorrhagic diathesis of liver dysfunction. *Acta med. scand.* **134**: 139 (1949).
- (61) Forell, M. M. und Koller, F.: Die Beurteilung der Leberfunktion durch die Bestimmung von Faktor V, Faktor VII und Prothrombin. Wirkung von Synkavit und Vitamin K₁. *Münch. med. Wschr.* **95**: 433 (1953).
- (62) Witte, S.: Vergleichende Untersuchungen über den diagnostischen Wert der Gerinnungsfaktoren Prothrombin und Faktor VII sowie der Eiweißlabilitätsproben bei Leberparenchymkrankheiten **1955**: 1072.
- (63) Koller, F.: Klinik und Therapie der plasmatisch bedingten hämorrhagischen Diathesen. *Internat. Symposium über hämorrhagische Diathesen.* Springer, Wien, 1955.
- (64) Witte, S.: Über Beziehungen zwischen Blutgerinnung und Kapillarpermeabilität. *Folia haemat. N. F.* **1**: 320 (1957).

Der Verlag behält sich alle Rechte, besonders die des Nachdruckes, der Vervielfältigung und der Übersetzung, vor.

